

**T.C.
SİİRT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***Bacillus vallismortis* ve *Bacillus mojavensis*'in U(VI) DİRENÇLİLİĞİ,
BİYOAKÜMULASYONU VE ÇEVRE BİYOTEKNOLOJİSİNDE KULLANIMI
ÜZERİNE ÇALIŞMALAR**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Mehmet Kadir ODUNCU
(143104007)**

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Sadin ÖZDEMİR

**KASIM -2016
SİİRT**

TEZ KABUL VE ONAYI

Mehmet Kadir ODUNCU tarafından hazırlanan “*Bacillus vallismortis* ve *Bacillus mojevensisi*’in U(VI) dirençliliği, biyoakümülyasyonu ve çevre biyoteknolojisinde kullanımı üzerine çalışmalar” adlı tez çalışması 09/12/2016 tarihinde aşığıdaki jüri tarafından oybirliğı/oyçokluğu ile Siirt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Doç. Dr. Ersin KILINÇ

Danışman

Doç. Dr. Sadin ÖZDEMİR

Üye

Yrd. Doç. Dr. Mehmet Emre EREZ

İmza



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Doç. Dr. Koray ÖZRENK
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışması Siirt Üniversitesi BAP Birimi tarafından 2016-SİÜFEB-10 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

İmza

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖN SÖZ

Günümüzün en önemli sorunlarından biri olan sürdürülebilir ve kesintisiz enerji temini ülkemiz için de hayati bir önem taşımaktadır. Nükleer enerji, enerjide dışa bağımlılığımızı ve ekonomimizin cari açığını azaltmada büyük önem arz etmektedir. Bu enerjinin üretilmesinde ise en önemli hammaddelerden biri uranyumdur. Uranyum kullanımı; çevresel örneklerden zenginleştirilmesi ve toksik etkilerinden çevreyi ve canlıları korumak yönünden oldukça zahmetli ve maliyeti yüksek bir uygulamadır.

Çalışmamız da azami oranda çevre dostu bir yöntemin geliştirilmesine özen gösterdik. Yöntemin hem çevre dostu olması hem de verimlilik yönünden kullanılabilir olması çalışmanın zorluklarındandı. Ayrıca elde ettiğimiz U'un UV-Spektrofotometre gibi görece kolay bir yöntem ile tespitinin saptanabilmesi çalışmanın önemini artırmaktadır. Yöntemin U teminine katkı sağlamasıyla birlikte ülke ekonomisine pozitif etki sağlayacağını ümit ediyoruz.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren tez çalışmasının yürütülmesinde, sonuçlandırılmasında destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam sayın Doç.Dr Sadin ÖZDEMİR'e teşekkür ederim.

Ayrıca tez projemde desteklerini eksik etmeyen Prof.Dr. Mustafa SOYLAK, Doç. Dr. Ersin KILINÇ, Arş. Gör. Dr. Erkan YILMAZ, Uzm. Kadir Serdar ÇELİK'e de teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımın her aşamasında yanımda olan ve maddi-manevi desteklerini eksik etmeyen Biyoloji Bölümü Yüksek Lisans arkadaşlarım Adem KARAKAYA'ya, Yusuf TEĞİN'e ve Biyoloji Bölümü hocalarımdan Yrd. Doç. Dr. Mehmet Emre EREZ ile Uzm. Mehmet FİDAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans eğitimimde bana verdikleri manevi destek, göstermiş oldukları sabır ve anlayıştan dolayı annem, babam, kardeşlerim, eşim Meryem ODUNCU ve her akşam afacanlıkları ve yaramazlıkları ile yüzümüzü güldüren, sıkıntımızı alan kızım Azra Nur ODUNCU'ya da teşekkür ederim.

Mehmet Kadir ODUNCU
SİİRT-2016

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖN SÖZ	iiiv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
KISALTMALAR VE SİMGELERLİSTESİ.....	xii
ÖZET	xv
ABSTRACT.....	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. Çevre Biyoteknolojisi	1
1.2. Ağır Metaller.....	2
1.2.1. Ağır metallerin tanımı.....	2
1.2.2. Ağır metallerin çevreye yayılımı	3
1.2.3. Ağır metallerin canlılar üzerindeki bazı etkiler	5
1.3. Radyonüklidler.....	8
1.3.1. Uranyum	9
1.3.2. Toryum.....	12
1.4. Bioakümülyasyon	14
1.5. Katı Faz Ekstraksiyonu	15
1.5.1. SPE metodunda maddelerin ayrılma prensipleri	19
1.5.2. SPE metodunun avantajları.....	21
1.6. UV - Görünür Bölge Spektroskopisi	22
1.7. Biyosorpsiyon	26
1.7.1. Metabolizmaya bağlı olmayan metal tutması	26
1.7.2. Metabolizmaya bağlı olan metal tutması	26
1.8. Amberlite XAD Türü Reçineler	27
1.9. Karbon Nanotüpler (KNT).....	278
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	31
3. MATERYAL VE METOT.....	37
3.1. Bakteri İzolasyon İşlemi ve Saf Kültür Bakteri Üretimi	37
3.2. Besiyeri Maddeleri.....	37
3.2.1. Sıvı besiyeri	37
3.2.2. Katı besiyeri [Nutrient broth agar (NB)]	37
3.3. Bakteri Üretimi	37
3.4. <i>B. vallismortis</i> ve <i>B.mojavensis</i> 'in Minimum İnhibe Edici Konsantrasyonlarının (MIC) Belirlenmesi.....	37

3.5. Farklı Uranyum Konsantrasyonlarının <i>B. vallismortis</i> ve <i>B. mojavensis</i> Üremesi Üzerine Olan Etkisinin İncelenmesi	38
3.6. % Uranyum Gideriminin Ve Biyoakümülyasyonunun Tespit Edilmesi	38
3.7. Uranyumun UV-Spektrofotometrik Olarak Tayini.....	38
3.8. Farklı Uranyum Konsantrasyonlarının α -Amilaz Enzim Üretimi Üzerine Etkisinin Araştırılması.....	39
3.9. Amilaz Enzimi Aktivite Tayini (Bernfeld Yöntemi, 1955).....	39
3.10. Bernfeld Reaktifinin Hazırlanması	39
3.11. Kurutulmuş Ölü <i>B. vallismortis</i> ve <i>B. mojavensis</i> Hücrelerinin Uranyum Katı Faz Ekstraksiyonu İçin Hazırlanması	39
3.12. Ölü (Kurutulmuş) <i>B. vallismortis</i> ve <i>B. mojavensis</i> 'in XAD-4 Ve Çok Duvarlı Karbon Nanotüp (MWCNT) Üzerine Tutuklanması (İmmobilize Edilmesi).....	40
3.13. Kolonun Hazırlanması	40
3.14. XAD-4 ve MWCNT Üzerine Tutuklanmış Ölü <i>B. vallismortis</i> ve <i>B. mojavensis</i> İle Uranyum Katı Faz Ekstraksiyonu.....	41
3.14.1. Ph etkisi.....	41
3.14.2. Akış hızı.....	41
3.14.3. Büyükle miktarı	41
3.14.4. Matriks miktarı	41
3.14.5. Elüent hacmi, tipi ve konsantrasyonu	42
3.14.6. Örnek hacmi.....	42
3.14.7. Kolon kapasitesi.....	42
3.14.8. Farklı iyonların etkisi.....	42
3.14.9. Kolon kullanımı	43
3.14.10. Sertifikalı referans materyaller ile yöntemin doğruluğunun tespiti.....	43
3.14.11. Numunelerdeki uranyum tespiti.....	43
3. 15. Kullanılan Aletler	43
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	45
4.1. <i>B. vallismortis</i> ve <i>B. mojavensis</i> Kullanarak U(VI) İçin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MIC).....	45
4.2. Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının <i>B. vallismortis</i> ve <i>B. mojavensis</i> 'in Üremesi Üzerine Etkisi	46
4.3.Farklı U(VI) konsantrasyonlarının <i>B. vallismortis</i> ve <i>B. mojavensis</i> Kullanarak Uzaklaştırılması ve Biyoakümülyasyonu Üzerine Etkisi	47
4.4. Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının <i>B. vallismortis</i> ve <i>B. mojavensis</i> 'in α -amilaz Üretimine Etkisi.....	50
4.5. FT-IR Analizi Ve Yüzey Karakterizasyonu	51
4.6. pH'nın U(VI)'nın Gerikazanımı Üzerine Olan Etkisi.....	58
4.7. Akış hızının U(VI)'nın Gerikazanımı Üzerine Olan Etkisi.....	61
4.8. Biyosorbent Miktarının U(VI)'nın Gerikazanımı Üzerine Olan Etkisi.....	62
4.9. Destek Matriks Miktarının U(VI)'nın Gerikazanımı Üzerine Olan Etkisi.....	64
4.10. Elüent Cinsi, Derişimi Ve Hacminin U(VI)'nın Gerikazanımı Üzerine Olan Etkisi	65
4.11. Örnek Hacminin U(VI)'nın Gerikazanımı Üzerine Olan Etkisi.....	67
4.12. Yabancı İyonların U(VI)'nın Gerikazanımı Üzerine Olan Etkisi	69
4.13. Kolon Tekrar Kullanımının U(VI)'nın Gerikazanımı Üzerine Olan Etkisi	70
4.14. Biyosorpsiyon Kapasitesi	72

4.15. U(VI) Zenginleştirilmesi Ve Geliştirilen Katı Faz Ekstraksiyon Metodlarının Analitiksel Özellikleri.....	72
4.16. Sertifikalı Referans Madde Ve Doğal Örneklerde Geliştirilen Metotlarla U(VI) Tayini.....	73
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	77
5.1. Sonuçlar	77
5.2. Öneriler	79
6. KAYNAKLAR	83
ÖZGEÇMİŞ	93

TABLolar LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1. Ekosisteme Dahil Olan Toksik Ağır Metallerin Kaynakları	5
Tablo 1.2. Önemli Ağır Metallerin Ekolojik Sınıflandırılması.....	7
Tablo 1.3. Dünyada kg'ı 80ABD dolarına mal edilen görünür rezervi en fazla olan başlıca ülkeler	10
Tablo 1.4. Dünya Uranyum Üretimi	12
Tablo 1.5. Dünya'daki Önde Gelen Toryum Rezervlerine Sahip Ülke	13
Tablo 1.6. SPE adsorbanları.....	19
Tablo 1.7. SPE metodunda sıklıkla kullanılan çözücüler	19
Tablo 3.1. Farklı iyonların miktarlarının etkisi.....	42
Tablo 4.1. <i>B. vallismortis</i> için Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MIC) Değerleri	45
Tablo 4.2. <i>B. mojavensis</i> için Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MIC) Değerleri	46
Tablo 4.3. MWCNT Üzerine tutturuluş <i>B. vallismortis</i> kullanarak U(VI) geri kazanımı üzerine Eluent tipi, hacmi ve konsantrasyonunun etkisi	66
Tablo 4.4. MWCNT Üzerine tutturuluş <i>B. mojavensis</i> kullanarak U(VI) geri kazanımı üzerine Eluent tipi, hacmi ve konsantrasyonunun etkisi	66
Tablo 4.5. XAD-4 Üzerine tutturuluş <i>B. vallismortis</i> kullanarak U(VI) geri kazanımı üzerine Eluent tipi, hacmi ve konsantrasyonunun etkisi	67
Tablo 4.6. XAD-4 Üzerine tutturuluş <i>B. mojavensis</i> kullanarak U(VI) geri kazanımı üzerine Eluent tipi, hacmi ve konsantrasyonunun etkisi	67
Tablo 4.7. MWCNT Üzerine tutturuluş <i>B. vallismortis</i> 'in Yabancı iyonların U(VI) Geri kazanımı üzerine etkisi	69
Tablo 4.8. MWCNT Üzerine tutturuluş <i>B. mojavensis</i> 'in Yabancı iyonların U(VI) Geri kazanımı üzerine etkisi	69
Tablo 4.9. XAD-4 Üzerine tutturuluş <i>B. vallismortis</i> 'in Yabancı iyonların U(VI) Geri kazanımı üzerine etkisi	70
Tablo 4.10. XAD-4 Üzerine tutturuluş <i>B. mojavensis</i> 'in Yabancı iyonların U(VI) Geri kazanımı üzerine etkisi	70
Tablo 4.11. MWCNT üzerine tutturulmuş <i>B. vallismortis</i> kullanarak U(VI) zenginleştirilmesi ve geliştirilen katı faz ekstraksiyonu metodunun analitiksel özellikleri.....	73
Tablo 4.12. MWCNT üzerine tutturulmuş <i>B. mojavensis</i> kullanarak U(VI) zenginleştirilmesi ve geliştirilen katı faz ekstraksiyonu metodunun analitiksel özellikleri.....	73
Tablo 4.13. XAD-4 üzerine tutturulmuş <i>B. vallismortis</i> kullanarak U(VI) zenginleştirilmesi ve geliştirilen katı faz ekstraksiyonu metodunun analitiksel özellikleri.....	73
Tablo 4.14. XAD-4 üzerine tutturulmuş <i>B. mojavensis</i> kullanarak U(VI) zenginleştirilmesi ve geliştirilen katı faz ekstraksiyonu metodunun analitiksel özellikleri.....	73
Tablo 4.15. MWCNT üzerine tutturulmuş <i>B. vallismortis</i> kullanarak sertifikalı referans madde ve doğal örneklerde geliştirilen metotla U(VI) tayini.....	74

- Tablo 4.16.** MWCNT üzerine tutturulmuş *B. mojavensis* kullanarak sertifikalı referans madde ve doğal örneklerde geliştirilen metotla U(VI) tayini..... 75
- Tablo 4.17.** XAD-4 üzerine tutturulmuş *B. vallismortis* kullanarak sertifikalı referans madde ve doğal örneklerde geliştirilen metotla U(VI) tayini..... 75
- Tablo 4.18.** XAD-4 üzerine tutturulmuş *B. mojavensis* kullanarak sertifikalı referans madde ve doğal örneklerde geliştirilen metotla U(VI) tayini..... 76

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1.	Görünür Uranyum Kaynakları.....	11
Şekil 1.2.	Klasik Bir SPE Kolonunun Yapısı	15
Şekil 1.3.	SPE Mikro Plakları.....	16
Şekil 1.4.	Çeşitli ticari SPE kolon ve diskler.....	16
Şekil 1.5.	Vakum mani foldu.....	17
Şekil 1.6.	SPE yöntemi ile maddelerin ayrılma şekilleri.....	18
Şekil 1.7.	SPE yöntemi ile maddelerin ayrılma şekilleri.....	18
Şekil 1.8.	Olası Elektron Geçişlerinin Enerji Diyagramı	24
Şekil 1.9.	Elektromanyetik Spektrumda Enerji-Frekans-Dalga boyu İlişkisi	25
Şekil 1.10.	Çok duvarlı karbon nanotüp	28
Şekil 1.11.	Tek duvarlı karbon nanotüp	29
Şekil 4.1.	Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının <i>B. vallismortis</i> 'in Üremesi Üzerine Etkisi	47
Şekil 4.2.	Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının <i>B. mojavensis</i> 'in Üremesi Üzerine Etkisi	47
Şekil 4.3.	Değişik İnkübasyon Zamanlarında Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının <i>B. vallismortis</i> tarafından Uzaklaştırılması.....	48
Şekil 4.4.	Değişik İnkübasyon Zamanlarında Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının <i>B. mojavensis</i> tarafından Uzaklaştırılması.....	48
Şekil 4.5.	Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının <i>B. vallismortis</i> 'in Biyoakümüasyonu Üzerine Etkisi	49
Şekil 4.6.	Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının <i>B. mojavensis</i> 'in Biyoakümüasyonu Üzerine Etkisi	50
Şekil 4.7.	Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının <i>B. vallismortis</i> 'in α -Amilaz Üretimi Üzerine Etkisi	51
Şekil 4.8.	Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının <i>B. mojavensis</i> 'in α -Amilaz Üretimi Üzerine Etkisi	51
Şekil 4.9.	a. Amberlite XAD-4'e tutturulmuş <i>B. vallismortis</i> FT-IR spektrumu, b. Amberlite XAD-4' tutturulmuş <i>B. vallismortis</i> üzerine biyosorplanmış U(VI) FT-IR spektrumu	53
Şekil 4.10.	a. MWCNT'ye tutturulmuş <i>B. vallismortis</i> FT-IR spektrumu, b. MWCNT'ye tutturulmuş <i>B. vallismortis</i> üzerine biyosorplanmış U(VI) FT-IR spektrumu	54
Şekil 4.11.	a. Amberlite XAD-4'e tutturulmuş <i>B. mojavensis</i> FT-IR spektrumu, b. Amberlite XAD-4'e tutturulmuş <i>B. mojavensis</i> üzerine biyosorplanmış U(VI) FT-IR spektrumu	55
Şekil 4.12.	a. MWCNT'ye tutturulmuş <i>B. mojavensis</i> FT-IR spektrumu, b. MWCNT'ye tutturulmuş <i>B. mojavensis</i> üzerine biyosorplanmış U(VI) FT-IR spektrumu	56
Şekil 4.13.	a. Amberlite XAD-4'e tutturulmuş <i>B. vallismortis</i> SEM görüntüsü, b. Amberlite XAD-4'e tutturulmuş <i>B. vallismortis</i> üzerine biyosorplanmış U(VI) SEM görüntüsü	57
Şekil 4.14.	a. MWCNT'ye tutturulmuş <i>B. vallismortis</i> SEM görüntüsü, b. MWCNT'ye tutturulmuş <i>B. vallismortis</i> üzerine biyosorplanmış U(VI) SEM görüntüsü	57

- Şekil 4.15.** a. Amberlite XAD-4'e tutturulmuş *B. mojavensis* SEM görüntüsü, b. Amberlite XAD-4'e tutturulmuş *B. mojavensis* üzerine biyosorplanmış U(VI) SEM görüntüsü.....58
- Şekil 4.16.** a. MWCNT'ye tutturulmuş *B. mojavensis* SEM görüntüsü, b. MWCNT'ye tutturulmuş *B. mojavensis* üzerine biyosorplanmış U(VI) SEM görüntüsü58
- Şekil 4.17.** Farklı katı faz ekstraksiyon kolonları kullanarak U(VI)'nin gerikazanımı üzerine pH'nın etkisi a) *B. vallismortis*+MWCNT, b) *B. mojavensis*+MWCNT, c) *B. vallismortis*+XAD-4 ve d) *B. mojavensis*+XAD-4.....60
- Şekil 4.18.** Farklı katı faz ekstraksiyon kolonları kullanarak U(VI)'nin gerikazanımı üzerine akış hızının etkisi a) *B. vallismortis*+MWCNT, b) *B. mojavensis*+MWCNT, c) *B. vallismortis*+XAD-4 ve d) *B. mojavensis*+XAD-4.....62
- Şekil 4.19.** Farklı biyosorbent miktarları kullanarak oluşturulan katı faz ekstraksiyon kolonlarının U(VI)'nin gerikazanımı üzerine olan etkisi a) *B. vallismortis*+MWCNT, b) *B. mojavensis*+MWCNT, c) *B. vallismortis*+XAD-4 ve d) *B. mojavensis*+XAD4.....63
- Şekil 4.20.** Farklı destek matriks miktarları kullanarak oluşturulan katı faz ekstraksiyon kolonlarının U(VI)'nin gerikazanımı üzerine olan etkisi a) *B. vallismortis*+MWCNT, b) *B. mojavensis*+MWCNT, c) *B. vallismortis*+XAD-4 ve d) *B. mojavensis*+XAD-465
- Şekil 4.21.** Farklı katı faz ekstraksiyon kolonları kullanarak U(VI)'nin gerikazanımı üzerine örnek hacminin etkisi a) *B. vallismortis*+MWCNT, b) *B. mojavensis*+MWCNT, c) *B. vallismortis*+XAD-4 ve d) *B. mojavensis*+XAD-4.....68
- Şekil 4.22.** Farklı katı faz ekstraksiyon kolonları kullanarak U(VI)'nin gerikazanımı üzerine kolon kullanımının etkisi a) *B. vallismortis*+MWCNT, b) *B. mojavensis*+MWCNT, c) *B. vallismortis*+XAD-4 ve d) *B. mojavensis*+XAD-4.....72

KISALTMALAR VE SİMGELERLİSTESİ

<u>Kısaltma</u>	<u>Açıklama</u>
OECD/NEA	: Nükleer Enerji Ajansı
IAEA Akademisi)	: International Atomic Energy Agency(Uluslararası Atom Enerjisi
ThO₂	: Toryumun Oksit
MTA	: Maden Tetkik Arama Genel Müdürlüğü
SPE	: Solid phase extraction (Katı Faz Ekstraksiyonu)
KNT	: Karbon Nanotüp
MWCNT	: Multi-walled-nanotubes (Çok Duvarlı Karbon Nanotüp)
HCl	: Hidroklorik Asit
HNO₃	: Nitrik Asit
NWTM-15	: Referans materyal (Fortified water).
NCS ZC7301	: Referans materyal (Tea Sample).
FT-IR Spectroscopy).	: Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektroskopisi (Fourier Transform İnfrared
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TDKNT	: Tek duvarlı karbon nanotüpler
ÇDKNT	: Çok duvarlı karbon nanotüpler
ICP-OES spektrofotometresi (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry).	: İndüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon
XAD-4	: Kolonda matris için kullanılan yapı taşı. Reçine
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı (Round Per Minute).
UV	: Ultra viole
CFU	: Koloni Oluşturan Sayısı (Colony Forming Unit).
GDMO	: Genetiği değiştirilmiş mikroorganizmalar
NB	: Nutrient Broth
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
3,5 DNS	: 3,5 Dinitro Salisilik Asit
U/mL	: Ünite/mililitre
mM	: Millimolar
v/w	: Hacim/ağırlık
w/w	: Ağırlık/ağırlık
v/v	: Hacim/hacim
U/mg	: Ünite/miligram
kDa	: Kilo dalton
U/g	: Ünite/gram
nm	: Nanometre
mL	: Mililitre
mA	: Miliamper
µL	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
Cd	: Kadmiyum
Co	: Kobalt
Fe	: Demir
Cu	: Bakır
Hg	: Cıva
Ni	: Nikel

Zn	: Çinko
As	: Arsenik
Se	: Selenyum
Mo	: Mobilden
Ag	: Gm
Be	: Berilyum
Pb	: Kurun
Sn	: Kalay
Va	: Vanadyum

<u>Simge</u>	<u>Açıklama</u>
%	: Yüzde
β	: Beta
α	: Alfa
$^{\circ}\text{C}$: Santigrat derece

ÖZET

YÜKSEK LİSANS

***Bacillus vallismortis* ve *Bacillus mojavensis*'in U(VI) DİRENÇLİLİĞİ, BİYOAKÜMULASYONU VE ÇEVRE BİYOTEKNOLOJİSİNİN DE KULLANIMI ÜZERİNE ÇALIŞMALAR**

Mehmet Kadir ODUNCU

**Siirt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı**

Danışman : Doç. Dr. Sadin ÖZDEMİR

II. Danışman : Yrd. Doç. Dr. Erdal ÖĞÜN

2016, 93 Sayfa

Termotolerant *Bacillus vallismortis* ve *Bacillus mojavensis* kullanarak Uranyum(VI)'nın dirençliliği ve biyoakümülasyonu çalışılmıştır. U(VI) minimum inhibisyon konsantrasyon değerleri *B. vallismortis* için 82,5 mg/L ve *B. mojavensis* için 85 mg/L olarak bulunmuştur. Farklı U(VI) konsantrasyonlarının *B. vallismortis* ve *B. Mojavensis*'in üreme ve biyoakümülasyonu üzerine etkisi sıvı besiyerinde incelenmiştir. Bakterilerin sıvı besiyerinde, katı besiyerine göre daha hassas oldukları bulunmuştur. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, U(VI)'nın biyoakümülasyon kapasiteleri *B. vallismortis* ve *B. mojavensis*'in gelişim fazlarının farklı evrelerinde farklılık göstermiştir. *B. vallismortis* ve *B. mojavensis*'in en yüksek biyoakümülasyon kapasiteleri sırasıyla 50 ve 48,2 mg/g kuru bakteri olarak belirlenmiştir. *B. vallismortis* ve *B. mojavensis* kullanarak farklı U(VI) konsantrasyonlarının α -amilaz üretimi üzerine olan etkisi de test edilmiştir. Bunlara ilaveten U(VI) iyonları çok duvarlı MWCNT ve XAD-4 reçinesi üzerine tutturulmuş *B. vallismortis* ve *B. mojavensis* ile önderiştirilmiştir ve UV-vis spektrofotometre ile belirlenmiştir. pH, akış hızı, biyosorbentlerin ve destek matrislerinin miktarı, eluent tipi, konsantrasyonu ve hacmi, yabancı iyonlar, örnek hacmi ve katı faz ekstraksiyon kolonlarının tekrar kullanımı gibi U(VI)'nin gerikazanımı üzerine çeşitli faktörlerin etkisi çalışılmış ve ekstraksiyon koşulları optimize edilmiştir. U(VI)'lı ve U(VI)'süz MWCNT ve XAD-4 reçinesi üzerine immobilize edilmiş *B. vallismortis* ve *B. mojavensis*'in karakterizasyonu FT-IR ve SEM ile incelenmiştir. Yeni katı faz ekstraksiyon metodlarının doğruluğu için sertifikalı referans materyaller kullanılmıştır. Doğrulanen yeni metodlar doğal örneklerdeki U(VI)'nin belirlenmesi için uygulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Bacillus vallismortis*, *Bacillus mojavensis*, uranyum(VI), dirençlilik, biyoakümülasyon, katı faz ekstraksiyonu, UV-vis spektrofotometre

ABSTRACT

MS THESIS

WORKS ON U(VI) RESISTANCE, BIOCHEMISTRY AND ENVIRONMENTAL BIOTECHNOLOGY *Bacillus vallismortis* and *Bacillus mojavensis*

Mehmet Kadir ODUNCU

The Graduate School of Natural and Applied Science of Siirt University
The Degree of Master of Science
In Biology

Supervisor : Assoc. Prof. Sadin ÖZDEMİR

Co-Supervisor : Asst. Prof. Erdal ÖĞÜN

2016, 93 Pages

Bioaccumulation and resistance of Uranium(VI) were experimented by using thermotolerant *Bacillus vallismortis* and *Bacillus mojavensis*. The minimum inhibition concentration of (MIC) values of U(VI) was found to be 82,5 mg/L for *B. vallismortis* and 85 mg/L for *B. mojavensis*. The effect of various U(IV) concentrations on the growth and bioaccumulation on *B. vallismortis* and *B. mojavensis* were investigated in the liquid culture media. It was found that the bacteria in liquid media was more sensitive than in the solid media. What was obtained from this study is that there was diversity in the various periods of the growth phases of uranium bioaccumulation capacities, which were shown by *B. vallismortis* and *B. mojavensis*. The highest U(VI) bioaccumulation capacities of *B. vallismortis* and *B. mojavensis* were determined to be 50 and 48,2 mg/g dried bacteria, respectively. The effect of various concentration of U(VI) on α -amylase production by using *B. vallismortis* and *B. mojavensis* was also tested. In addition to these, uranium(VI) ions were preconcentrated with immobilized *B. vallismortis* and *B. mojavensis* onto multiwalled carbon nanotube (MWCNT) and XAD-4 resin and were determined by UV-vis spectrophotometry. The effect of several factors such as pH, flow rate of solution, amount of biosorbents and support materials, eluent type, concentration and volume, the foreing ions, sample volume and reusage of solid phase extraction columns on retention of U(VI) were studied and extraction conditions were optimized. The characterization of immobilized *B. vallismortis* and *B. mojavensis* onto MWCNT and XAD-4 resin with and without U(VI) were examined by FT-IR and SEM. The certified reference materials were utilized for the validation of new solid phase extraction methods. The new validated methods were applied for the determination of U(VI) in natural samples.

Keywords: *Bacillus vallismortis*, *Bacillus mojavensis*, uranium(VI), resistance, bioaccumulation, solid phase extraction, UV-vis spectrophotometer

1. GİRİŞ

1.1. Çevre Biyoteknolojisi

Endüstriyel gelişmeye ile birlikte artan çevre kirliliği kentsel yaşamda önemli sorunlar ortaya çıkarmıştır. Bilhassa yirminci yüzyılın ikinci yarısında, nüfus artışıdaki hızlanmaya bağlı olarak artan çevre kirliliği, temel kaynakların daha fazla kirlenmesine neden olmuş ve sonuçta ekosistemin düzeninin bozulması kaçınılmaz olmuştur (San, 2007).

Takibi büyük bir hızla gelişen teknolojik ilerlemelere insanların bitmek bilmeyen tüketim hızı eklenince çevre kirliliği karşımıza önemli bir sorun olarak çıkar. Bu sorunun çözümünde teknolojik ürünler önemli bir alternatif sunsa da oluşturdukları son ürünlerin çevreye verdiği zararlar oldukça fazladır (Dönmez, 2006).

Birçok endüstri kuruluşu, işlem algoritmaları gereği çeşitli toksik metaller ve radyoaktif maddeleri kullanmaktadırlar. Bunlar içerisinde, kurşun, çinko, kobalt, kadmiyum, krom, arsenik, nikel, civa, gümüş, uranyum, toryum gibi, kalıcı etkilerinden dolayı çevre sağlığı yönünden önem taşımakta olup, canlı sistemlerde belirli bir sınırı aştığında ise son derece toksik etkisi göstermektedirler (Ozcan, 2010).

Çevre biyoteknolojisi en fazla kullanıldığı önemli bir alan ise enerji sektörüdür. Bu sektördeki işlemler arasında çevreye zarar vermeyen yakıtların üretimi kendiliğinden parçalanabilen son ürünlerin oluşması ve çevre kirliliğine neden olan maddeleri parçalayacak biyolojik mekanizmaların geliştirilmesi yer almaktadır (Tübitak, 2004).

Çevre kirliliğinin dünya üzerindeki artış eğilimi açısından bakılırsa, nükleer enerji yeni nesiller için büyük bir önem kazandığı görülmektedir (Fta ve ark., 1997).

Bilindiği üzere nükleer enerji, atomun çekirdeğinden elde edilen bir enerji türüdür. Etkin bir şekilde kullanabilmek ve çeşitli enerji türlerine dönüştürmek amacıyla nükleer reaktörler kurulmaktadır (wikipedia.org).

Nükleer enerji üretiminde açığa çıkan atığın doğal süreçte yok olması on binlerce yıl sürerken bu atıkların insanlığa, çevreye ve bütün canlılara uzun vadede ciddi zararları bulunduğu tespit edilmiştir. Nükleer atıklar oldukça uzun sürede havaya, suya ve toprağa karışan radyasyonun bitkilere, insanlara ve diğer canlılara değişik yollardan etkileme potansiyeli vardır. Solunum, deri, tüketilen besinler ve topraktan canlıları etkilemesi olasıdır (Ekdal ve ark., 2000).

Bilim adamları ve çevre mühendislerinin çözmek zorunda kaldıkları önemli bir sorun da nükleer atıkların sürdürülebilir, maliyeti düşük ve uygulanması pratik teknolojik metodlar geliştirmekle karşı karşıya kalmalarıdır (Nourbakhsh ve ark., 1994).

Çevre biyoteknolojisinde; çevrenin yaşamsal olata daha kaliteli ve temiz olması için sıklıkla mikrobiyal canlıları araçsal olarak kullanılır. Bu yöntemlerden olan biyoremediasyon, toksik kimyasalların ve diğer zararlı bileşik içeren atıkların yığılması ile gerçekleşen çevresel faciaları azaltma ya da en aza indirip elimine etmek için organizmaların kullanılmasıdır. Bu teknolojiye, daha çok GDMO (Genetiği değiştirilmiş mikroorganizmalar) organik ve inorganik bileşimlerin dönüşümleri için kullanılmıştır. Tabi bu yöntemler geri kazanım ve geri kullanım içinde önem arz eder (Gazso, 2001).

Teknolojik gelişmelerle birlikte yapılan son çalışmalarda, bazı mikroorganizmaların çevreyi kirleten metallere temizlenmesinde önemli ölçüde kullanılabileceği anlaşılmıştır (Costa ve Duta, 2001).

Bu gelişmelerden hareketle son yıllarda içinde ağır metal bulunan atıksuların kullanılabilir hale getirilmesinde biyolojik yöntemlerin; etkili, pratik ve ekonomik olmaları nedeniyle geleneksel arıtım yöntemlerinin yerine tercih edildiği ve bilimsel araştırmalar bu yönde ağırlık kazanmaktadır. Biyolojik süreçlerle metal arıtımı, özellikle mikrobiyal hücrelerle yapılan metal biyosorpsiyonu etkili ve alternatif bir teknolojidir (Costa ve Leite, 1991).

Nükleer teknolojiye, endüstride ve arıtma teknolojilerinde adsorpsiyona ve biyosorpsiyona dayalı ayırma ve geri kazanma işlemleri önemli yer tutmaktadır. Atık suların ağır metallere ve radyonüklitlerin mikroorganizmalar tarafından biyosorpsiyonu, bu metallere giderimi veya geri kazanımları için mevcut teknolojilere potansiyel bir alternatif olarak kabul edilmiştir. Canlı veya ölü mikroorganizmalar, hücre yüzeyindeki fonksiyonel grupların mevcudiyetinde metal iyonlarını bağlarlar. Canlı ve ölü organizmalar serbest ya da immobilize formlarda, biosorpsiyon için kullanılabilirler (Türközü, 2006).

1.2. Ağır Metaller

1.2.1. Ağır metallerin tanımı

Atmosferdeki farklı gaz ile parçacıkların fazlalıkları, fabrika bacalarından çıkmakta olan hava kirleticiler ile atıkları bitki ve toprak verimliliklerine olumsuz anlamda etkide bulunmaktadır. Bilhassa yirminci yüzyılın ikinci yarılarında endüstri

gelişimlerine bağlı biçimde meydana gelen ve artarak süren hava ile ağır metal kirlilikleri çağımızda tüm canlıların üzerinde tehdit oluşturur (Zheljazkov ve Nielsen, 1996).

Ağır metaller genel manada tarif edilecek olursa nispeten yüksek yoğunluklara sahip, düşük konsantrasyonlar da dahi toksik ya da zehirleyici durumda olan metaldir. Gerçekte tanımı ise atom numaralarına bakılarak sınıflandırıldığı zaman, atom numarası 20'den büyük ya da bir santimetreküp hacim kaplayan miktarları beş gramdan daha fazla ağır durumdaki metaller, ağır metal şeklinde adlandırılmaktadır. Ağır olan metal gruplarına kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), kobalt (Co), demir (Fe), bakır (Cu), civa (Hg), nikel (Ni) ile çinko (Zn) başta olmak kaydıyla 60'tan çok metal dahil olmaktadır (Kahvecioğlu ve ark., 2003).

1.2.2. Ağır metallerin çevreye yayılımı

Zehirleyici niteliğe sahip olan ağır metaller muhtelif kaynaklardan çevrelere yayılmakta ve çağımızda çevre kirliliklerinin önemli sebeplerinden birini meydana getirmektedir (Goyer, ve Clarkson, 1996).

Toprak, hava, su ile gıdanın kirlenmelerine sebep olan ağır metalleri kaynaklar; volkanik patlamalar, depremler, seller gibi jeolojik kökenli olan doğal kaynaklardan olabilecekleri gibi endüstriyel, tarımsal, kentsel ve ulaşım benzeri antropojenik kökenli de olabilmektedirler (Yıldız, 2004).

İnsanoğlu yüzyıllar süresince ağır metallerin tesirlerini bilmeden silah, takı, su borusu gibi çeşitli gayelerle kullanmışlardır. Çağımızda gerek hızlı biçimde sanayileşme gerekse her geçen gün artmakta olan trafik yoğunlukları nedeniyle ağır metallerin çevredeki yoğunlukları hızlıca artmaktadır (Munzuroğlu ve Gür, 2000).

Son zamanlarda kimya fabrikalarında çok yaygın biçimde kullanılan metal içeren mantar ilaçlarıyla ahşap koruyucular, büyük sanayi komplekslerinin yaydıkları gaz ile tozların toprakla bitkileri kirlendikleri ifade edilmektedir (Melanie ve ark., 2013).

Böylece gıda zinciri içine taşınabilir, yüksek toksik maddeler içermelerinden ötürü, insan ve hayvan sağlığı ve ürün üretimleri üzerinde bir tehdit etkeni olabilirler (Korentajar, 1991).

Termik santrallerde enerji üretmek amacıyla kullanılmakta olan linyit kömürü, yüksek sıcaklıklar içerisinde yakıldığından dolayı, kömür içinde bulunan birçok ağır olan metal; Fe, Cu, Zn, Mn, Pb, Cd, Ni, Co, Cr ve bazen polisiklik aromatik hidrokarbonlar küle geçmektedirler. Enerji üretmek gayesiyle kullanılmakta olan

kömürün kül oranlarının artışı ile doğru orantılı biçimde ağır metal içerikleri de kaynaktan kaynaklara göre değişmekle beraber, umumiyetle artış gösterir (Constantine ve arka., 2004)

Ağır olan metaller yağış durumlarına göre, direkt olarak toprağa gelerek, oradan bitkilere, hatta birtakım şartlarda taban sularına ulaşırlar. Kısmen de yüzeysel akış ile uzak çevreye yayılırlar (Yıldız, 2004).

Ağır olan metallerin ekolojik sistem içerisinde yayılımları dikkate alındığı zaman doğal çevrimlerden daha fazla insanın sebep olduğu etkiler sebebiyle çevreye yayınımları söz konusu oldukları görülmektedir. Ağır olan metallerin çevreye yayınımlarında etkili olan en mühim endüstriyel çalışmalar demir çelik sanayi, çimento üretimleri, cam üretimleri, çöp ile atık çamur yakma tesisleri ve termik santrallerdir (Markert, 1993).

Ağır olan metallerin çevreye yayılım kaynakları Tablo 1’te sunulmuştur

Tablo 1.1. Ekosisteme Dâhil Olan Toksik Ağır Metallerin Kaynakları

	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Se	Mo	Ag	Cd	Ba	Pb
Endüstri														
Plastikler	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Ev aletleri yapım sanayi					+	+	+					+		
Tekstil	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Ağaç işletmeciliği	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
Havadaki Partikül Ve Dumanlar														
Fosil yakıtlar	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+
Metal işletmeciliği	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
Şehir, fabrika vs.	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+
Taşıtlar												+	-	+
Tarım														
Sulama	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+
Gübreleme	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-
Pestisit uygulaması	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Hayvansal gübreler	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Kireçler	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
Metal aşınması	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
Metal işletmeciliği ve eritmeden gelen atıklar														
Maden işlemlerinden rüzgârla çevreye yayılanlar								+				+		+
Metallerin eritilmesinden								+	+			+		+
Demir ve çelik endüstrisinden	+				+	+	+					+		
Metal işlemciliğinden	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-
Atıklar														
Lağım	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+
Kazma ve delme	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+
Küller	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+

1.2.3. Ağır metallerin canlılar üzerindeki bazı etkileri

Doğada mevcut elementlerden Cu, Zn, Co, Mn, Mo, Ni, Cr ve Se başta olmak kaydıyla 25 tanesi hayat için lüzumlu olup vücut içerisinde esansiyel element işlevini üstlenmektedir. Örnek olarak söz konusu metallerden Cu ve Zn gibi metaller verilebilir.

Bitkilerde Zn, metabolizma olaylarını düzenlemekte olan enzim sistemleri için elzemdir (Allan, 1997).

Vücutta fizyolojik olarak belli bir düzeyde işlevsel olan bazı elementler olması gereken değerin üzerine çıktığında metal bulaşması haline gelip toksik etki meydana getirmektedirler (Bolger ve ark., 2006).

Diğer taraftan birtakım metaller ise fizyolojik ile biyokimyasal fonksiyonların oluşumlarında ve düzenlenmelerinde hiçbir rolleri olmamakla beraber vücutta buldukları zaman vücut fonksiyonlarını bozan bir etki göstermektedirler. Örnek olarak Pb, Cd, As, Hg, Be, B ve Sn gibi vücut adına gerekli olmayan ve vücutta bulunmaması gerekli olan bu ağır olan metaller belli limitlerin üstünde vücut ile gıda maddelerinde bulunmaları durumunda toksik etki yapmaktadırlar (Bakar ve Baba, 2009).

Organizmaya alınmakta olan metaller, metabolizma üstünde toksik etkilerini farklı yollar ile yapabilmektedirler. Enzim inhibisyonu, doku birikimi ve sentez blokajı bunlardandır (Xiao, 2013).

Söz konusu duruma örnek olarak proteinler ile etkileşime girerek onların enzimatik ve yapısal unsurlarını değiştirip inhibe etmesini verebiliriz. Böylelikle temel elementlerin yerlerini alıp toksik etkisini gösterebilirler veya birtakım toksik metaller, proteinler ile bir araya gelerek intraselüler birikimlere sebep olabilir (Xu ve ark., 2013).

Metallerin pek çoğunun karsinojenik potansiyelleri de olabilir. Türlü karsinojenik metal bileşiklerinin hidrojen peroksit (H_2O_2) varlıklarında deoksiribonükleik asit (DNA) oksidatif hasarlarına sebep olduğu ifade edilmiştir (Vural, 2005).

Metaller karsinojenik kimyasalları aktive ederek de etki edebilmektedir. 1970'li yıllarda araştırmacılar biyolojik elementler ile toksik metallerin benzer olan kimyasal ile fiziksel nitelikleri olduklarını iddia etmişlerdir. Kanserojen biçimde etki gösteren pek çok bileşiklerin DNA'ya zarar verdikleri ve zarar görmüş DNA'ya sahip olan hücreler de bölündüklerinde mutant hücrelerin oluşumlarına yol açabilirler (Ames B.N. ve ark, 1975).

Metaller Domingo tarafından 4 bölüme ayrılmıştır. (Domingo, 1998) ;

1. Çevrede geniş ölçüde bulunan, en fazla biçimde toksisiteye sebep olan metaller: Ar, Cd, Pb, Hg

2. Esansiyel iz elementler: Cr, Co, Mn, Se, Zn

3. Biyolojik ehemmiyeti olan başka metaller: Ni, Va

4. Farmakoloji ile alakalı metaller: Al, Ca, Li

Ağır olan metaller biyolojik proseslere katılım derecelerine bakılarak bitki ile hayvanlarda lüzumlu olup olmamaları ile kirlenici olup olmadıklarına göre sınıflandırılması Tablo 4'te sunulmuştur. Yaşamsal biçimde tanımlananların organizma yapılarında belli bir konsantrasyonda olmaları gereklidir ve söz konusu metaller biyolojik olan reaksiyonlara katıldıklarından ötürü düzenli şekilde besinler vasıtasıyla alınmaları zaruridir. Örnek olarak Cu hayvanlar ile insanlarda kırmızı olan kan hücreleri ile pek çok oksidasyon ve redüksiyon proseslerinin vazgeçilmez parçalarıdır (Gürbüz, 2015)

Buna bağlı olarak yaşamsal olmayan ağır metaller çok düşük olan konsantrasyonda bile psikolojik yapıları etkileyip sağlık sorunlarına sebep olabilmektedirler. Söz konusu gruba en iyi misal kükürtlü enzimlere bağlanmakta olan Hg'dir (Duffus ve Worth, 1996).

Tablo 1.2. Önemli Ağır Metallerin Ekolojik Sınıflandırılması

Element	g/cm ³ özgül ağırlık	Bitki ve Hayvan İçin Gereklilik	Kirlenici Olup Olmadığı
Ag (gümüş)	10,5	Gerekli Değil	Kirlenici
Cd (kadmium)	8,5	Gerekli Değil	Kirlenici
Cr (krom)	7,2	Gerekli	Kirlenici
Co (kobalt)	8,9	Gerekli	Kirlenici
Cu (bakır)	8,9	Gerekli	Kirlenici
Fe (demir)	7,9	Gerekli	Kirlenici
Hg (civa)	13,6	Gerekli Değil	Kirlenici
Mn (mangan)	7,4	Gerekli	Kirlenici Değil
Pb (kurşun)	11,3	Gerekli Değil	Kirlenici
Mo (molibden)	10,2	Gerekli	Kirlenici
Ni (nikel)	8,9	Gerekli	Kirlenici
Pt(platin)	21,5	Gerekli Değil	Kirlenici Değil
Tl (talyum)	11,9	Gerekli Değil	Kirlenici
Sn(kalay)	7,3	Gerekli Değil	Kirlenici
U (uranyum)	19,1	Gerekli	Kirlenici
V (vanadyum)	6,1	Gerekli	Kirlenici
W (tungstem)	19,3	Gerekli	Kirlenici
Zn (çinko)	7,1	Gerekli	Kirlenici
Zr (zirkon)	6,3	Gerekli Değil	Kirlenici Değil

Ağır metallerin insanların metabolizmalarında oluşturdukları etki ile etkin oldukları evreleri ana sistemler bakımından özetle ele alırsak:

- Kimyasal reaksiyonlara etki gösterenler,
- Fizyolojik ile Taşınım sistemlerine etki etmekte olanlar,
- Kanserojen ile mutojen biçiminde yapı taşlarına etki gösterenler,
- Alerjen şekilde etki edenler,
- Spesifik biçimde etki edenler şeklinde sıralamak mümkündür

(Kahvecioğlu ve ark., 2003).

1.3. Radyonüklidler

Radyoaktif elementler, genellikle radyoaktif izotoplar veya radyonüklitler diye isimlendirilirler. Bu şekilde 1500'den fazla radyoaktif nüklit olduğu düşünölmektedir. Bu radyonüklitler üç genel grupta toplanabilirler;

- 1- Dünyamızın ilk oluşumu evresinde olusan (Karasal)
- 2- Uzay (Kozmik) ışın etkileşimleri sonucunda meydana gelen (Kozmik)
- 3- Yapay olarak, insanların meydana getirmesi ile oluşan (Doğal olmayan)

İlk zamanlarda ki radyonüklitler, dünya ve evren yaratıldığı dönemlerden kalmışlardır. Bu radyonüklitlerin yarı ömürleri çok fazladır. Ağır elementlerden oluşan doğal radyoaktif izotoplar genellikle üç grup altında toplanırlar. Bunlar; Uranyum serisi (238U kaynaklı), Toryum serisi (232Th kaynaklı), Aktinyum serisi (235U kaynaklı) dir. Bu radyoaktif ağır element serilerinden ayrı olarak doğada yalnız halde bulunabilen ve kendilerine has özelliklere sahip olan bazı doğal radyonüklitler de mevcuttur. 40K bu grubun en önemlilerindedir. 235U, 238U, 40K ve 232Th gibi doğada büyük oranda bulunan radyonüklitlerin yarılanma ömürleri sırasıyla, $7,04 \times 10^8$, $4,47 \times 10^9$, $1,28 \times 10^9$ ve $1,41 \times 10^{10}$ yıldır. Yerkürenin oluşumundaki bu radyonüklitlerin bozunumu sonucu gama ışınları ortaya çıkmakta ve çevresel radyasyonun büyük kısmını oluşurmaktadır (Kalyoncuoğlu ve ark., 2010).

Genel anlamda iyonizasyon radyasyonu, atom ve moleküllerin parçalanması sonucu, pozitif yüklü iyonların kalması ve elektronların açığa çıkmasına sebep olan ışımalar demektir. Böyle iyonizasyon doğal veya yapay radyo izotoplardan, X ışınlarından veya gama ışınları tarafından oluşturulabilir.

1. Dünya Savaşı sırasında gerek X-ışınları ve gerekse radyoaktif elementler çeşitli alanlarda kullanılmaya başlanmıştır. Radyoaktif ışımaya ile ortaya çıkan nükleer enerjiden yararlanılarak ilk defa 1942 de Chicago Üniversitesinde fizikçi Enrico Fermi

ve arkadaşlarının yardımı ile atom pili yapılmış, böylece "atom enerjisi" denilen yeni ve büyük bir enerji kaynağı insan emrine girmiş oluyordu. 1945 Ağustos ayı içinde II. Dünya Savaşı'nın hızla ilerlediği bir zamanda, Hiroşima'da atom bombası kullanılmıştır. Bu bombanın atılışı geniş bir insan kitlesinin ölümüne yol açmıştır. Savaştan sonra ise radyasyon enerjisi insanlığın rahat ve mutluluğunu arttırmak, sağlığını koruma amacına kullanılmak için yöneltmiştir. Tıp, veterinerlik, tarım, fizik ve kimya gibi bilim dallarının gelişmesinde büyük yararlar sağlanmıştır. Ancak bu geniş kullanma alanı, bir taraftan da insan sağlığı için tehlikeli olmuştur (Güley ve Vura, 1976).

1.3.1. Uranyum

Uranyum, nükleer enerji üretiminde hammadde durumunda olup 1789'da Alman kimyager Klaproth tarafından bulunmuştur (Özbal, 2015).

Uranyum, aslen metal olsa bile daha çok enerjinin üretiminde kullanıldığından diğer metallere göre oldukça farklı bir sınıfa dâhil edilmektedir. Ayrıca uranyum, tabiatta bilinmekte olan en ağır metaldir. Sarı renkteki toz durumuna getirilmiş hali, başlangıç olarak seramik sanayi sektöründe renklendirici bir madde olarak kullanılmıştır. Uranyum doğadaki çok basit bileşikleri meydana getirdiği için, uranyum taşıyan çok fazla mineral bulunmaktadır. Bu mineraller, değişken derecelerdeki uranyum oksiti (U_3O_8) içermektedirler. Bu minerallerin bilinen sayısı 100 civarındadır. Uranyuma ait mükemmel olan diğer bir özellik ise, yavaş nötronlar ile bölünebilen ve bölündüğü zaman enerjiyi açığa çıkaran U_{235} maddesini içermesidir. Uranyumun öteki temel izotopu U_{238} , diğer bir element plutonyumuna dönüştürülebilmekte ve bu element de fisyon işlemine tabi tutulabilmektedir (Hiçsönmez ve Eral, 2015).

Uranyumu içeren mineraller iki gruba ayrılmaktadır. Bunlara primer ve sekonder mineraller adı verilmektedir. Primer mineraller derin yataklı mağmayla alakalı olanlardır. Bu tip mineralin en iyi bilineni pitchblend mineralidir (Baker, 2014).

Uraninit, siyah, gri-siyah renkleri olan daha çok uranyum oksitten (U_3O_8) meydana gelen bir mineraldir. Hava, su ve kimyasal olarak diğer aktif maddeler ile temas sonucunda, birincil maddeler yavaşça değişikliğe uğramakta ve yeni fiziki ve kimyevi özelliklere sahip maddeler oluşmaktadır. İkinci türün güzel örneği cornotittir. Bu mineral limon sarısı ile portakal rengi arasında bir renge sahip ve %50 uranyum oksit içeren bir mineraldir. Ekonomik biçimde işletilebilecek uranyuma ait diğer mineraller ise, autunit, coffenet ve torbernitdir. Genellikle uranyumun çıkartılmasında, metalik madenlerin diğerlerinin çıkarılmasında uygulandığı gibi iki mühim metot

uygulanmaktadır. Bu metotlar, açık işletme ile yer altı madenciliğidir. Örnek olarak Kanada ve Güney Afrika'da daha fazla yer altı madenciliği uygulanır iken, ABD'de Colorado platosunda açık işletmeyle beraber, yer altı madenciliği metodunun da uygulandığı görülmektedir (Ellis, 2016).

Ülkemizde Sorgun yatakları kapalı; Köprübaşı-Kasar yatağı ise, açık işletme metodu ile işletilmektedir (Şaşmaz, 2008).

Maden ürünü olan uranyum, öğütülmek suretiyle %80 uranyum oksit haline getirilmektedir. Rafine ve redüksiyon işlemlerinden geçirilen madde, enerjinin üretimi için hazır duruma getirilmektedir. Uranyuma ait kaynakların maliyetlere göre sınıflandırıldığı görülmektedir. Günümüzde maliyetler OECD/NEA (Nükleer Enerji Ajansı) ve IAEA (International Atomic Energy Agency) tarafından 80/kg ve 80-130/kg ABD dolarına mal edilenler biçiminde sınıflandırılmaktadır (Zhang ve ark., 2016).

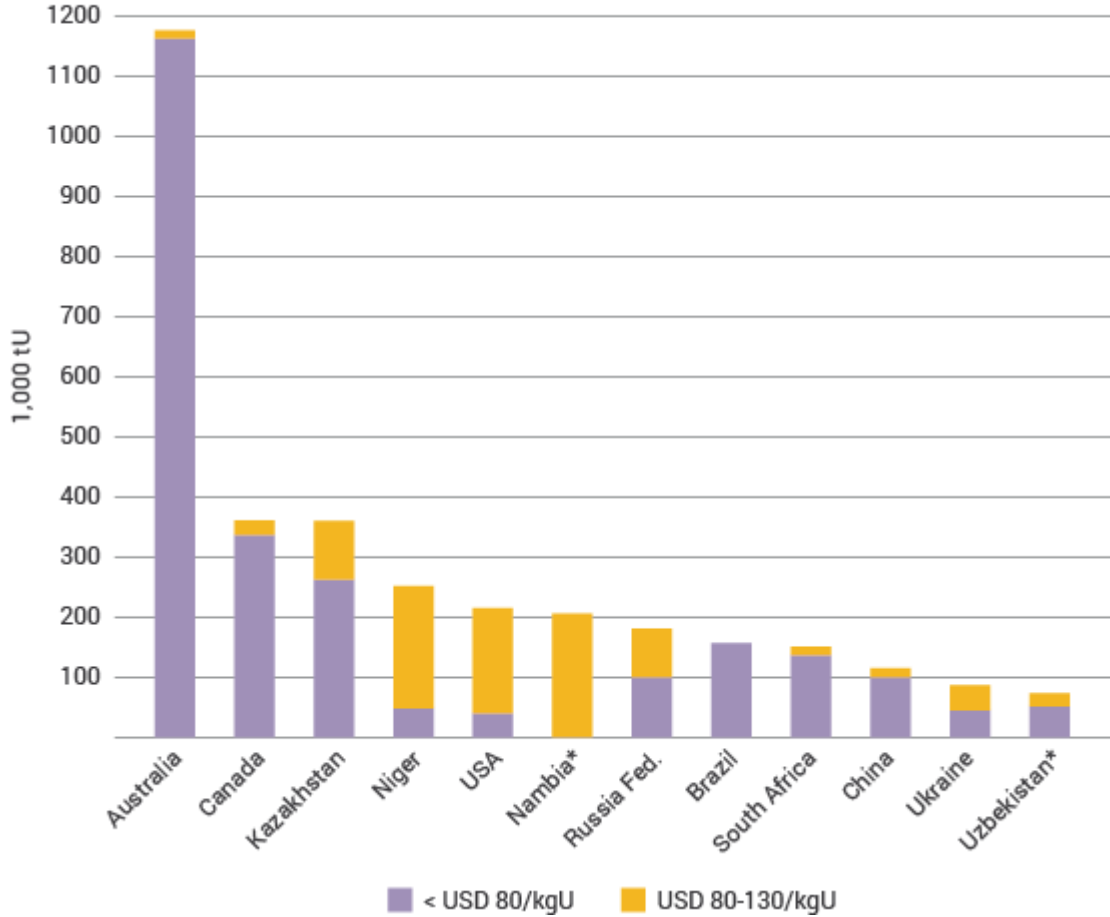
2014 yılına ait verilere göre, dünyada 5,902,500 ton görünen uranyum rezervi bulunmaktadır. Dünyada görünen uranyum rezervlerinin en çok olduğu ülkeler sırası ile aşağıdaki gibidir (oecd.nea.org).

Tablo 1. 3 Dünyada kg'ı 80 ABD dolarına mal edilen görünür rezervi en fazla olan başlıca ülkeler

Ülkeler	Miktar (TU)	Yüzde (%)
Avusturalya	1,706,100	29
Kazakistan	679,300	12
Rusya	505,900	9
Kanada	493,900	8
Nijerya	404,900	7
Namibya	382,800	6
Güney Afrika	338,100	6
Brezilya	276,100	5
ABD	207,400	4
Çin	199,100	4
Moğolistan	141,500	2
Ukrayna	117,700	2
Özbekistan	91,300	2
Botswana	68,800	1
Tanzanya	58,500	1
Ürdün	33,800	1
Diğer	191,500	3
Dünya Toplam	5,902,500	

Uranyuma ilişkin rezervlerin dünyada eşit bir biçimde dağılmadığı görülmektedir. Tablo 1. 3'te verilmiş olan ülkelere en yüksek rezerve sahip olan

dünya rezervinde sahip olduğu %29'luk pay ve 1,706,100 ton ile Avusturalya'dır. Avusturalya'dan sonra en yüksek rezerve sahip olan ülke 679,300 ton (%12) ile Kazakistan olmuştur. Türkiye'nin sahip olduğu rezerv miktarı %1'lik dilimin altında kaldığından listede yer verilmemiştir.



Şekil 1.1. Görünür uranyum kaynakları

Dünya'daki uranyum rezervler üretim maliyetleri açısından ele alındığında kilogram başına 80 Dolar altı maliyetli rezervler ve 80-130 Dolar fiyatlı rezervler olarak ikiye ayrılmaktadır (Zhang ve ark., 2016).

Şekil 1.1'de görüldüğü üzere rezerv miktarları dikkate alındığında 80 Dolar altı maliyetli uranyumda en yüksek değer Avusturalya'dadır. Namibya, ABD ve Nijerya'nın ise rezervlerinin büyük çoğunluğunun 80-130 \$ arasında maliyetli olduğu görülmektedir.

Dünya'daki uranyum imalatı açısından bakıldığında, kısaca aşağıdaki özellikler görülmektedir: Dünya genelindeki uranyum imalatında yıllara göre genel olarak artış eğilimi görülmekle birlikte, 2010-2011 ve 2013-2014 yılları arasında düşüş meydana

gelmiştir. Tablodaki değerlere göre en yüksek üretim miktarının ulaşıldığı yıl 2015'tir. 2015 yılına bakıldığında dünya uranyum üretiminin en çok olan ülkenin Kazakistan olduğu görülmektedir (23800 ton). Bu ülkeyi Kanada (13325 ton), Avusturalya (5672 ton), Nijer (4116 ton) ve Rusya (3055 ton) takip etmektedir (Tablo 1. 4) (Woods ve ark., 2015).

Uranyum ticaretini etkileyen en mühim kuruluş IAEA'dir. Avustralya, Nijer ve Gabon gibi ülkelere ait üretimlerin tamamını ihraç ettikleri, İngiltere, İsveç, İsviçre ve Japonya gibi ülkelerin ise tüketimlerin tamamını ithal ettikleri bilinmektedir. Fransa, Almanya ve ABD gibi ülkeler bazı ihtiyaçlarını dışardan alır iken, Kanada ve GAC ise bazı üretimlerini dışarıya satmaktadır (Woods ve ark., 2015).

Tablo 1.4. Dünya uranyum üretimi

Ülke	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Kazakistan	6637	8521	14020	17803	19451	21317	22451	23127	23800
Kanada	9476	9000	10173	9783	9145	8999	9331	9134	13325
Avusturalya	8611	8430	7982	5900	5983	6991	6350	5001	5672
Nijer	3153	3032	3243	4198	4351	4667	4518	4057	4116
Rusya	3413	3521	3564	3562	2993	2872	3135	2990	3055
Namibia	2879	4366	4626	4496	3258	4495	4323	3255	2993
Özbekistan	2320	2338	2429	2400	2500	2400	2400	2400	2385
Çin	712	769	750	827	885	1500	1500	1500	1616
ABD	1654	1430	1453	1660	1537	1596	1792	1919	1256
Ukrayna	846	800	840	850	890	960	922	926	1200
Güney Afrika	539	655	563	583	582	465	531	573	393
Hindistan	270	271	290	400	400	385	385	385	385
Çek Cumhuriyeti	306	263	258	254	229	228	215	193	155
Romanya	77	77	75	77	77	90	77	77	77
Pakistan	45	45	50	45	45	45	45	45	45
Brezilya	299	330	345	148	265	326	192	55	40
Fransa	4	5	8	7	6	3	5	3	2
Almanya	41	0	0	8	51	50	27	33	0
Malavi			104	670	846	1101	1132	369	0
Dünya Toplamı	41, 282	43, 764	50, 772	53, 671	53, 493	58, 489	59, 331	56, 041	60, 514
Ton U₃O₈	48, 683	51, 611	59, 875	63, 295	63, 084	68, 976	69, 969	66, 089	71, 364
Dünya Talebi Yüzdesi%	64	68	78	78	85	86	92	85	90

1.3.2. Toryum

Temel cevher filizi monazit olan toryuma ait diğer nükleer enerji üretim mineralleri tilyum, plütonyum ve lityumdur. Plotanyum suni biçimde imal edilen metalik elementtir. 1828'de keşfedilen toryuma ait diğer filizler toriz ve torianittir. Fakat nükleer enerjinin üretilmesi yönünden toryumdan kazanılan enerji, uranyuma

nazaran daha pahalı olup daha zor teknolojik işlemler gerektirmektedir. Bir başka ifade ile, toryum bazı teknolojik işlemler sonrasında enerji üretiminde kullanılmaktadır (Li ve ark., 2015).

Günümüzde yeryüzünde yalnızca toryum için işletilen yatak bulunmamaktadır. (700 ton THO₂ ise monzanitin yan ürünü olarak elde edilmiştir.) Bu ise, toryumun enerji kullanımının dışında kullanım sahasının yokluğundan kaynaklanmaktadır (Pehlivanli ve ark., 2014).

Türkiye, Dünya'daki başlıca toryum rezervlerinden bir tanesine sahip olmakla beraber, rezervlere ait net ve kesin miktar tartışmalı durumunu devam ettirmektedir. Maden Tetkik Arama Genel Müdürlüğü'nün (MTA), Eskişehir-Sivrihisar bölgesinde yaptığı faaliyetlerden elde edilen bulgular, Türkiye'de kanıtlanmış toryum rezervinin 380,000 ton olduğunu göstermektedir. Bu bölgenin toryum rezervleriyle ilgili ana problem ise, farklı minerallerin içerisinde karışık durumda bulunan toryuma ait tenörün Sivrihisar bölgesinde %0,2 gibi nisbi olarak düşük bir oranda kalmış olmasıdır. Bundan dolayı, Türkiye'de bulunan toryum rezervinin nispeten ekonomik olmadığı söylenebilmektedir. Yine aynı sebeple önceki senelerde, Türkiye'deki toryum rezervlerinin Dünyadaki toryum rezervlerinin arasında gösterilmediği faaliyetler de yapılmış olup bu durum, son gelişmeler ile beraber ortadan kaldırılmıştır (Yusan ve ark., 2012).

Tabiatta, uranyuma (U) göre miktar olarak 3-4 kat daha çok var olan toryumun Dünya'da bulunan rezervin tamamının değerlendirildiği çalışmalara göre, en büyük rezervin sahibi olan ülke takriben 850.000 tonla Hindistan olarak gösterilmektedir (Tablo 1. 5) (tenva.org).

Tablo 1. 5. Dünya'daki önde gelen toryum rezervlerine sahip ülkeler

Sıra	Ülke	Rezerv (ton)	Toplam İçindeki Payı (%)
1	Hindistan	846,500	12,5
2	Türkiye	744,000 – 880,000	11
3	Brezilya	606,000	9
4	Avustralya	521,000	7,7
5	ABD	434,000	6,4
6	Mısır	380,000	5,6
	Dünya (toplam)	6,730,000	100

1.4. Bioakümülyasyon

Mikroorganizma kullanılıp ağır metallerin biyolojik biçimde giderimi yalnızca bilimsel bir yenilik şeklinde değil, aynı zamanda endüstride potansiyel biçimde uygulamak amacıyla yakın olan zamanlarda oldukça dikkat çekmiştir. Metal akümülyasyon prosesleri umumi şekilde ölü biyokütle ürünleriyle olan pasif birikim ile canlı hücrelerle olan biyoakümülyasyon şekilde iki türden meydana gelir (Dönmez ve Aksu, 2000).

Adsorpsiyon, çözeltiliyle temas durumundaki katı olan yüzeysel adsorbent üstünde çözeltilide çözülmüş biçimde mevcut olan maddelerin tutulması işlemleri olup, umumiyetle faz yüzeylerinde meydana gelen bir ayırma olayıdır (Cooney ve ark., 1992).

Canlı mikroorganizmalar ile yapılan adsorpsiyon işlemlerine “ biyoakümülyasyon ” denmektedir. Canlı ile ölü olan hücreler ile yapılan adsorpsiyon işlemlerinin, düşük konsantrasyonlu ağır olan metallerin uzaklaştırılmalarında kullanılabilmesi mühim bir üstünlüktür (Akar ve Tunali, 2006).

Ölü biçimdeki mikroorganizmalar, aktif olan organizmalara nazaran nispeten yüksek, metal uzaklaştırma kapasitelerine sahiptir. Ancak ölü mikroorganizmalar ile çalışılmaktayken, mikroorganizmanın ayrı olan bir yerde üretilerek, daha sonra öldürülmesi benzeri bir takım güçlükleri vardır. Söz konusu zorlukları kaldırmak amacıyla da, uzaklaştırılması istenilen kirliliğin olduğu ortamda mikroorganizma üretilip, ortama alıştırmak amacıyla mikroorganizma üremeleri üzerine ağır metal iyonlarının etkilerini ortaya koymak adına çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Hamutoğlu ve ark., 2012).

Biyoakümülyasyon hücre içerisinde metal birikimidir. Söz konusu proses hücrenel bileşikler üstündeki metal bağlayıcılar, iç hücrenel çöktürme ile diğer mekanizmaları içermektedir. Hücre metabolizmalarına bağlı oldukları için enerji kaynakları eksiklikleri ile düşük sıcaklıklar gibi metabolik inhibitörler tarafından inhibe edilebilmektedir. Biyoakümülyasyon adına gerekli olan aktivasyon enerjisi 63 kJ/mol'dür. Biyoakümülyasyon nutrient yavaş ve bağımlı bir prosestir (Kadukova ve Vircikova, 2004).

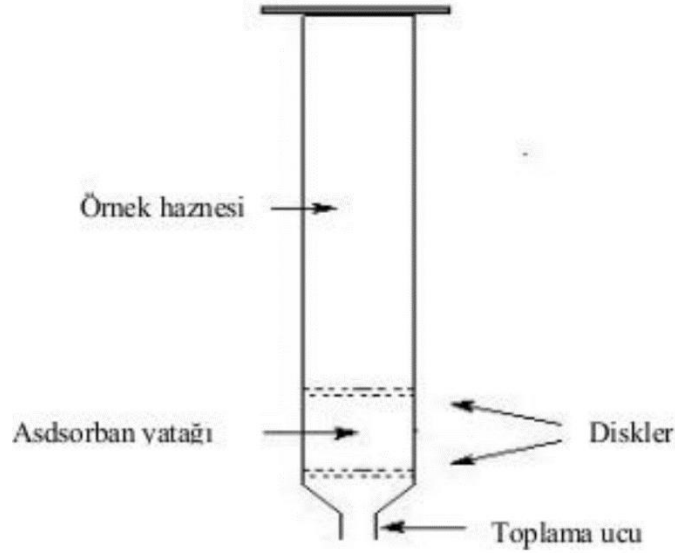
1.5. Katı Faz Ekstraksiyonu

SPE metodu, temel biçimde küçük, tek kullanımlık olarak ekstraksiyon kolon ya da disklerine muhtelif tutucu olan maddelerin doldurulması ile sıvı örneklerini istenilmeyen bileşenlerden ayırmak (temizleme), yoğunlaştırmak ve ileri ki analiz evreleri adına örnek matriks yapılarının değiştirilmesi gayesiyle hazırlanmış olan kolonlar ile disklerden geçirilmeleri esaslarına dayanmaktadır (Alothman ve ark., 2015).

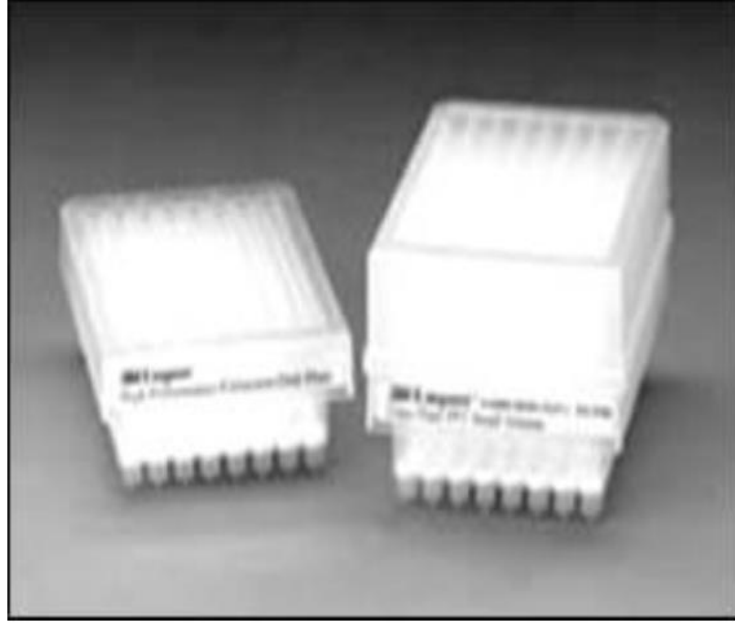
Sıvı örneklerinin kolondan geçirilmesi, yerçekimleri ile birlikte gerçekleştirilebildiği gibi, aynı zamanda kayıplarının önüne geçmek adına vakum manifoldları yardımlarıyla da yapılabilmektedir (Falaki ve Berijani, 2016).

Son senelerde aynı prensiplerle çok daha fazla düşük miktarlarda örneklerin uygulanmış olduğu çok miktarda kuyucuk (genelde 96) içermekte olan SPE plakaları da kullanılır (Qiu ve ark., 2015).

Klasik olan bir SPE kolonunun yapısı, muhtelif ticari SPE kolon, disk ile plakalarıyla vakum pompa ile manifoldlu süzme düzenekleri sırasıyla Şekil 1. 2, Şekil 1. 3, Şekil 1. 4, Şekil 1. 5'te sunulmaktadır (lipidlibrary.aocs.org).



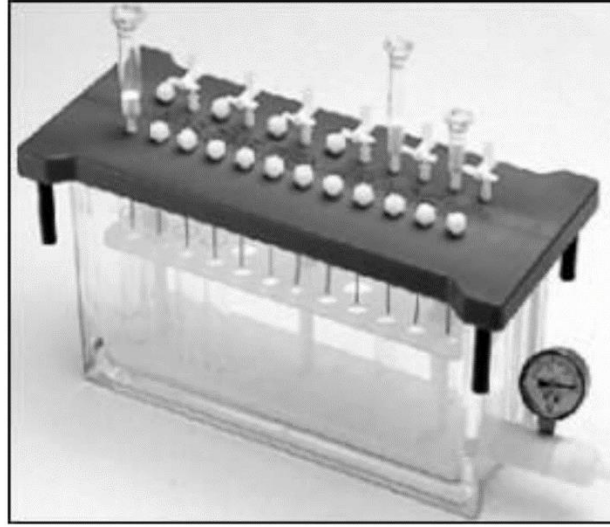
Şekil 1.2. Klasik bir SPE kolonunun yapısı



Şekil 1.3. SPE mikro plakalar



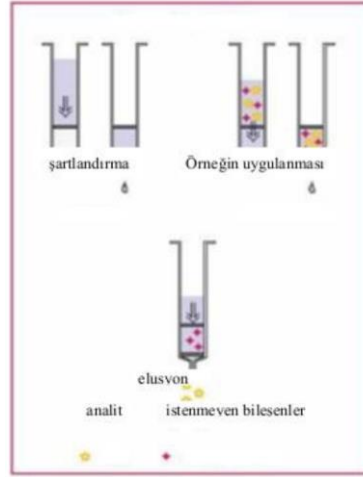
Şekil 1.4. Çeşitli ticari SPE kolon ve diskleri



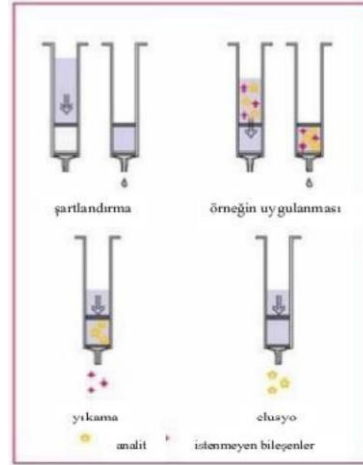
Şekil 1.5. Vakum manifoldu

SPE yönteminde kolondan geçirilme esnasında örnek molekülleriyle tutucu maddeler arasında kimyasal olan bir etkileşim meydana gelmektedir. Söz konusu etkileşimden yararlanarak maddelerin ayrılma işlemleri başlıca iki yöntemle gerçekleştirilmektedir. Birinci metotta ilk evrede, analiz edilecek olan bileşik tutucu maddelere bağlanıp kolon içerisinde tutulurken, çözelti ile istenilmeyen bileşenler bu maddelerle herhangi etkileşimlere girmezler. Akabinde istenilmeyen bileşenler uygun yıkama çözeltileriyle uzaklaştırılır ve analiz yapılacak bileşenler tutucu maddelerden uygun olan bir çözelti yardımı ile çözdürülerek alınmaktadır (Şekil 1. 2) (Macherey ve Nagel, 2004).

Daha az biçimde tercih edilen ikinci metotta ise, istenilmeyen bileşenlerin tutucu maddelerle etkileşimleri söz konusudur. Bilhassa atık yağlar benzerinde matriksden ayrılmaları güç olan maddelerin analizlerinde kullanılan bu metotta, matriksteki istenilmeyen bileşenler tutucu maddeler tarafından sıkı biçimde bağlanırlar. Asıl aranmakta olan madde ise tutucu maddeyle etkileşime girmez, uygun çözelti yardımı ile çözdürülerek bir araya getirilir. Bu metotta, kolon içindeki tutucu maddenin meydana getirdiği katı faz filtre görevi görmektedir (Şekil 1. 3) (Haginaka, 2005).



Şekil 1.6. SPE yöntemi ile maddelerin ayrılma şekilleri



Şekil 1. 7. SPE yöntemi ile maddelerin ayrılma şekilleri

Şekillerde de görüldüğü gibi, her iki biçimdeki ayırma metodunda da SPE kolondaki tutucu maddelerin öncelikle şartlandırılması gerekir. Şartlandırma işlemleri, kolondan uygun olan çözelti geçirilip tutucu maddelerin aktif duruma getirilmesi ve matrikstekki maddelerle tekrarlanabilir etkileşim adına gerekli olan ortamın sağlanabilmesi gayesiyle gerçekleştirilmektedir. Kolon hacminin 2-3 katı ölçüde su ile karışabilen metanol, polar olmayan tutucu maddeler, tetrahidrofur, isopropanol gibi polar çözücülerle polar tutucu maddelerse polar olmayan çözücüler ile şartlandırılmaktadır (Macherey ve Nagel, 2004).

SPE yönteminde ayırma işlemlerinin gerçekleşmesi adına tutucu madde ile çözücüler büyük önem arz etmektedir. Tablo 1. 6'da SPE adına tutucu olan kimyasal maddeler (adsorbanlar), Tablo 1. 7'de SPE yönteminde sıklıkla kullanılmakta olan çözücüler görülür.

Tablo 1. 6. SPE adsorbanları

Adsorban	Formülü
Silika jel	SiOH
Alümina	Al ₂ O ₃
Florisil	MgSiO ₃
Oktadesil (C ₁₈)	(CH ₂) ₁₇ CH ₃
Oktil (C ₈)	(CH ₂) ₇ CH ₃
Etil (C ₂)	CH ₂ CH ₃
Siyano	CN
Fenil	C ₆ H ₅
Sikloheksil	C ₆ H ₁₁
Amino	NH ₂
Diol	COHCOH
Kuarterner amin	N ⁺
Aromatik sülfonik asit	C ₆ HSO ₃ H
Karboksilik asit	COOH

Tablo 1.7 SPE metodunda sıklıkla kullanılan çözücüler

Polarite	Çözücü	Suyla Karışabilme
Nonpolar	Hekzan	Hayır
	İzooktan	Hayır
	Petrol eteri	Hayır
	Sikloheksan	Hayır
	Karbon tetraklorür	Hayır
	Kloroform	Hayır
	Metilen klorür	Hayır
	Tetraflüroren	Evet
	Dietil eter	Hayır
	Etil asetat	Zayıf
	Aseton	Evet
	Asetonitril	Evet
	İsopropanol	Evet
	Metanol	Evet
	Su	Evet
Polar	Asetik asit	Evet

1.5.1. SPE metodunda maddelerin ayrılma prensipleri

SPE yönteminde maddelerin birbirlerinden ayrılmaları, analizi yapılacak maddelerin molekülleriyle tutucu maddedeki etkili gruplar içerisindeki moleküller arasındaki etkileşimler sayesinde açıklanmaktadır. Analizi yapılacak olan madde molekülleri tutucu maddelerdeki etkili gruplara hidrojen, iyonik, dipol-dipol, dipol-indüklenmiş dipol ile indüklenmiş dipol - indüklenmiş dipol (van der Waals) bağlarıyla bağlanmaktadır. Bu biçimde aranan maddeler, matriksteki istenilmeyen bileşikler ile çözücüler birbirlerinden ayrılmış olurlar (Allothman ve ark., 2015).

SPE yönteminde kromatografik metotlara benzer biçimde, analiz edilecek olan madde, çözücü ile tutucu maddelerin niteliklerine göre muhtelif ayırma mekanizmaları

rol oynamaktadır. Belli başlı olan ayırma mekanizmaları biçiminde normal fazlar, ters fazlar, iyon değişimler (katyonik ile anyonik değişimler) ve moleküler elemeler (size exclusion) sayılabilmektedir (Macharey ve Nagel, 2004).

Normal faz; polar olmayan matrikslerin polar bileşiklerden ayrılmaları işlemidir. Şartlandırma evresi polar olmayan çözücüler, toplama aşamasıyla daha polar çözücüler yardımı ile gerçekleştirilmektedir (Falaki ve Berijanin, 2016).

Bu metotta en çok kullanılan tutucu madde silikadır. Florosilse pestisitler adına en uygun olan tutucu maddedir. Karbonhidratça zengin birtakım aşırı polar örnekler adına ise silika, alümina benzeri tutucu maddelere muhtelif grupların ilave edilmesiyle elde edilmekte olan siyano, diol ile amino grubu tutucu maddeler tercih edilir. Söz konusu maddelerde bulunan polar gruplar ile polar olmayan organik çözücüler (hekzan/dietileter gibi) içindeki orta seviyede polar örnek moleküllerini tutarlar (Macharey ve Nagel, 2004).

Ters faz, tutucu olan madde polaritesinin örnek çözeltilerinden daha düşük oldukları bir sistemdir. Oktadesil (C_{18}) söz konusu teknik adına en çok kullanılmakta olan madde olmakla beraber, oktil (C_8), bütül, fenil, sikloheksil ile siyano da muhtelif örnekler adına seçici olmaları sebebiyle tercih edilmektedirler. Ters faz, klinik ile çevresel olan örneklerde bulunan organik kalıntıların analizlerinde çok yaygın biçimde kullanılan bir ayırım tekniğidir (Falaki ve Berijani, 2016).

İyon değişim, bilhassa asit ile bazların matriksten elde edilmeleri gayesiyle kullanılmakta olan ve iki molekül arasında bulunan iyonların karşılıklı olarak değişimleri esaslarına dayanan bir teknik türüdür. SO_3^- ve $N^+(CH_3)_3$ benzeri etkin olan gruplar bağlanmış aşırı polar silika gibi tutucu maddeler iyon değişimler adına uygundur. SO_3^- grubu, örnek çözeltilerinde aranan ana maddelerin ayrılması amacıyla güçlü katyonik değişimi (SCX), $N^+(CH_3)_3$ grubuysa asitlerin bağlanması adına güçlü anyonik değişimleri (SAX) gerçekleştirmektedir.

İyon değişim tekniklerinde pH, zıt yüklü olmak, organik çözücünün niteliği, iyonik kuvvet ile örneğin kolondan geçiş hızları gibi unsurlar önem taşımaktadır. Başarılı olan iyon değişimlerinin sağlanabilmesi adına, tutucu maddeyle analiz yapılacak maddenin zıt yüklerde olmaları ve örnek çözeltideki zıt iyon yoğunluklarının düşük olması gerekir (Haginaka, 2005).

Moleküler eleme tekniklerinde ise dekstran jel benzeri maddeler, içermiş oldukları polar gözenekler sebebiyle örnek çözeltisi içindeki maddelerin molekül olarak

büyükliklerine göre ayrılmalarını sağlar. Örnek çözelti içindeki molekül ağırlıkları 10000'den düşük olan maddeler bu gözeneklere girebilirlerken, daha büyük olan maddeler direkt olarak kolondan geçerler. Böylelikle büyük olan maddeler ayrılırken, küçük olan molekül ağırlıklı maddeler kolonda kalırlar ve bu biçimde ayırım gerçekleşmektedir. Söz konusu teknikte, ideal olan maddelerin tutulması veya başka moleküler etkileşimlerin olmamaları istenmektedir. Moleküler eleme, ekseriyetle bağlı olmayan radyoizotoplar ile protein çözeltilerinden tuzların ayrılmalarında kullanılmakta olan bir tekniktir (Alothman ve ark., 2015).

1.5.2. SPE metodunun avantajları

SPE yönteminin başka örnek hazırlama metotlarına, bilhassa sıvı-sıvı ekstraksiyona mukayeseyle daha çok tercih edilmesinin sebepleri ve mühim üstün yönleri şöyle özetlenebilir:

a. SPE yöntemi klasik sıvı-sıvı ekstraksiyon metoduna nazaran 2/3 daha fazla hızlı netice verir ve örnek hazırlama evresinin oldukça kısaltılmasını gerçekleştirir (Alothman ve ark., 2015).

b. SPE, çokça pratik ve tüm laboratuarlarda kolayca uygulanabilir bir yöntemdir (Xiao ve ark., 2013).

c. Bu metotta daha az çözücü ile ayıraç maddeler kullanıldığından daha çok ekonomik olan bir örnek hazırlama gerçekleştirilebilir (Falaki ve Berijani, 2016).

d. Geri kazanım seviyesi yüksektir ve istenen yoğunluklarda örnekler elde edilebilir. En az ölçüde örnek transferleri yapıldığından yüksek biçimde geri kazanımlarla yüksek yoğunluk ile saflıkta örneklere ulaşılabilir (Buszewski ve Szultka, 2012).

e. Örnek, tutucu madde ile çözücülerin arasında çapraz biçimde bulaşma riskleri düşük olduklarından yüksek doğrulukta neticeler elde edilebilir (Alothman ve ark., 2015).

f. Düşük ölçülerde örnek işlendiğinden dolayı sıvı- sıvı ekstraksiyondaki benzeri emülsiyon oluşma sorunları yoktur (Falaki ve Berijani, 2016).

g. SPE yönteminde en az seviyede evaporasyona gereksinim duyulduğundan kararsız olan örnek oluşumları nadir olmaktadır (Buszewski ve Szultka, 2012).

h. Çözücü ile örneklerin az ölçülerde kullanılmasından ötürü zehirli maddeler ile temaslar daha az olmaktadır ve bununla birlikte daha az ölçüde cam

malzeme kullanılması sebebiyle analizi yapanlar adına oldukça güvenli olan bir yöntemdir. Diğer taraftan çevreyi kirletme riskleri daha azdır (Le, 2001).

i. Çok fazla sayıda örneğin aynı zamanda ve tekrarlanabilir biçimde işlenebilmesine imkân sağlayacak biçimde kolaylıkla otomasyon gerçekleştirilebilir (Macherey ve Nagel, 2004).

1.6. UV - Görünür Bölge Spektroskopisi

Elektronik enerjideki seviyeler arasındaki geçişler, görünür bölge spektroskopisi ve ultraviyole spektroskopisinin temelini oluşturmaktadır. Bu geçişlere bakıldığında bağ yapma özelliği olan orbitaller ya da elektron çiftine sahip orbitallerle bağ yapma özelliği bulunmayan (karşı bağ) ya da boş orbitaller arasında olduğu görülmektedir. Absorpsiyondaki dalga boyu, geçişlerin yaşandığı enerji düzeylerinin arasında bulunan farka ait bir ölçüdür. Enerji farkının en yüksekte olduğu zaman, sigma bağının oluşmasına sebep olan elektronların uyarılıp absorpsiyon yaptıkları zamandır. Bu hadise, 120 - 200 nm dolaylarındaki dalga boyuyla denk durumdadır. Bu olaya vakumlanmış ultraviyole denilmektedir. Zira bu aralıklarda ölçümün yapılabilmesi, ortamın havasının alınmış olmasına bağlıdır. Aksi halde aydınlatıcı bir spektrum elde edilememektedir. Ancak 200 nm'nin üstünde p, d, π orbitalleriyle konjuge n-sistemlerinde bulunan elektronlara ait geçişler rahatça izlenebilmekte ve aydınlatıcı spektrumlar elde edilebilmektedir (Bahar ve ark., 2015).

Çift bağa sahip alifatik bileşiklerle aroma bileşiklerinde, minimum enerjili geçişler $\pi \rightarrow \pi^*$ geçiştir. Sistemin konjugasyonu arttıkça geçişteki enerji azalmaktadır. İçerisinde hetero atom bulunan bileşiklerde ise dalga boylarının en uzun olanlarında gözlemlenen geçiş $n \rightarrow \pi^*$ türü geçişlerdir. Bu geçişlerdeki şiddet, $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişlerine göre daha az olmaktadır. Konjugasyon $n \rightarrow \pi^*$ türü geçişleri fazla etkilememektedir.

Apolar türdeki çözücünün polarla değiştirilmesiyle $n \rightarrow \pi^*$ geçişine ait dalga boyunun değeri en düşük seviyelere kaymaktadır. n elektronlarının polar bir çözücüyle etkileşimi sonucunda, elektronlara ait enerjinin azalmasına yol açan etkiye maviye kayma adı verilmektedir. Bir apolar çözücü yerine polar çözücü kullanıldığı zaman $\pi \rightarrow \pi^*$ türü geçişler için dalga boyu daha büyük ve enerjisi daha düşük fotonlar gerekmektedir (Liu ve ark., 2013).

Bir moleküle ait absorpsiyon bandı daha uzun dalga boylarına kayıyorsa buna kırmızıya kayma ya da batokromik etki; daha kısa dalga boylarına kayıyorsa maviye kayma ya da hipsokromik etki adı verilmektedir. Absorpsiyon bandındaki şiddet azaldığında hipokromik etki, arttığında ise hiperkromik etki ortaya çıkmaktadır.

Moleküllerden herhangi birinde, dalga boyunda bulunan belirli bir aralıktaki ışığa ait absorpsiyonun sorumlusu olan fonksiyonel grup, kromofor grup; ışık absorblanmadığı halde kromofor grupların absorbladığı ışığa ait dalganın boyunu daha yüksek değerlere kaydırarak absorpsiyon katsayısını çoğaltan gruplar ise okzokrom grup olarak adlandırılmaktadır (Naveed ve ark., 2014).

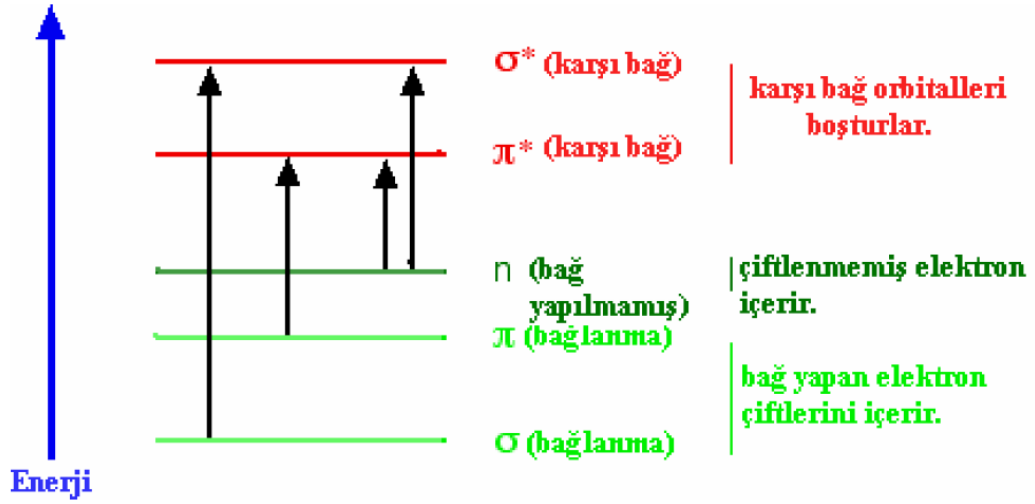
Bir bileşiğin içinden ışık geçirilir iken elektron, bağ orbitali ya da bağ yapmayan orbitalden, boş olan karşı bağ orbitaline ışığın enerjisi sayesinde yükselmektedir. Geçişlerin ikisinde de elektronla dolu orbitalin boş karşı bağ orbitali uyarılması sonucunda geçiş yapılmaktadır. Her geçişin ışıktan enerji alması gerektiğinden, enerji çoğaldıkça enerjisi yüksek geçişlerin ihtimali de artmaktadır. Işıқта her dalga boyu ile ilişkisi olan belli bir enerji seviyesi bulunmaktadır. Belirli olan bu enerji miktarının karşılanması durumunda (geçiş için yeterli enerji sağlandığında) geçiş gerçekleşerek o dalga boyunda ışık absorblanacaktır. Gerçekleşme ihtimali bulunan elektron geçişleri Şekil 1. 8'de verilmektedir. Şekil 1. 8'de görünen enerjide farklılıklar, absorblanan ışığın frekansı ile absorblanan ışığın dalga boyunu belirlemektedir. Enerjideki bu farklılıklar bileşiklerin hepsinde farklıdır. Elektron sıçraması için gerekli olan enerji, absorblanan ışığın frekansı ile ilgili olup bu ilişki aşağıdaki eşitlikte verilmektedir (Liu ve ark., 2013).

$$E = h.v$$

E = Işığın Enerjisi

h = Planck Sabiti

v = Işığın Frekansı



Şekil 1.8. Olası Elektron Geçişlerinin Enerji Diyagramı

Enerjisi yüksek olan geçişlerde, eşitlikten de anlaşılacağı gibi ışığa ait frekansın da yüksek olduğu açık durumdadır. UV-Görünür bölge spektrumunda frekansın yerine sürekli ışığa ait dalga boyundan söz edilmektedir. Bundan dolayı ışığın frekansıyla dalga boyu arasında bulunan ilişki aşağıdaki eşitlikte görünmektedir (Hema, 2014).

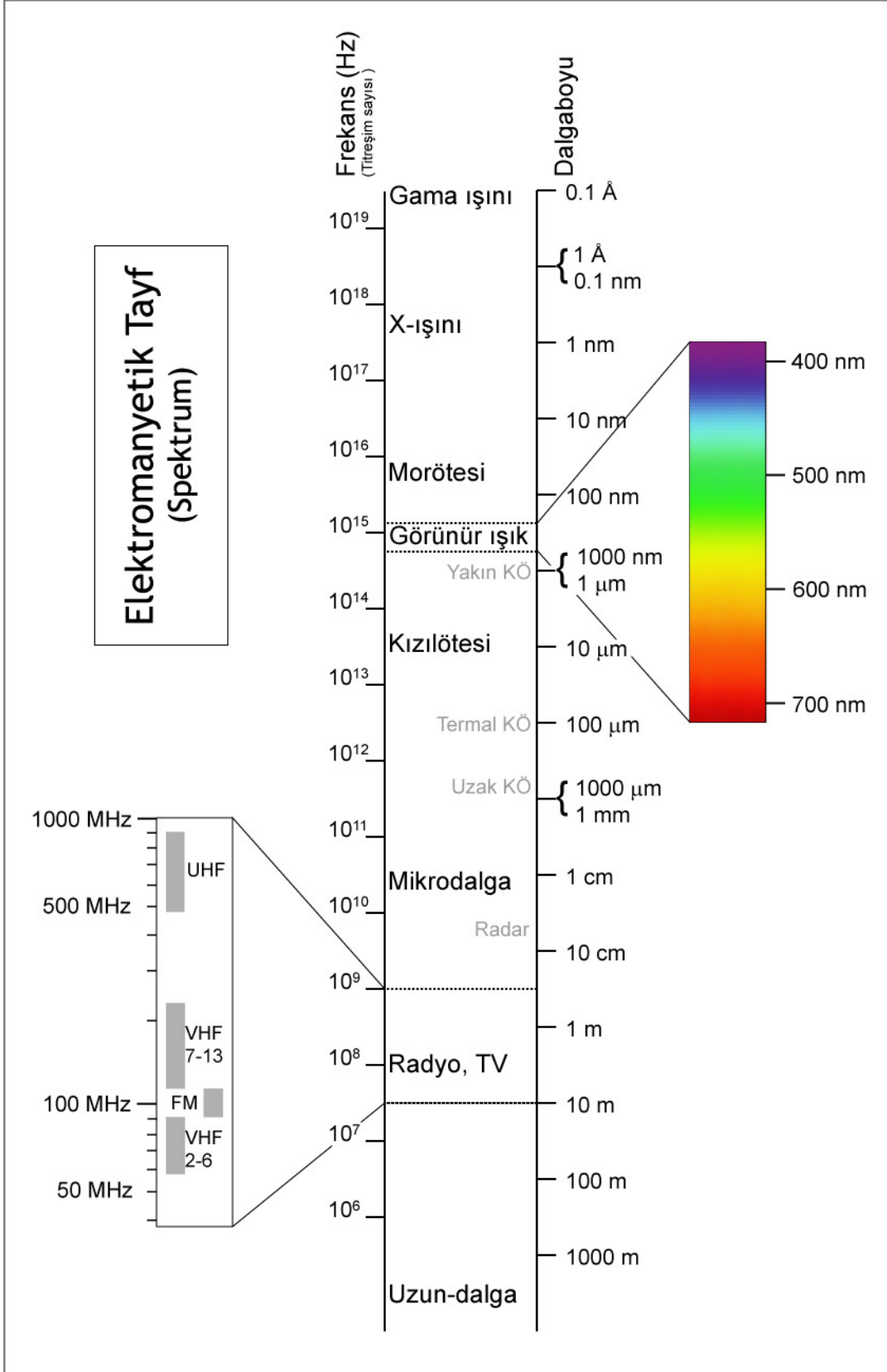
$$C = \lambda \cdot \nu$$

C = Işık hızı

λ = Dalga boyu

ν = Frekansı

Işığın frekansıyla dalga boyunun ters orantılı olmasından dolayı enerjisi yüksek olan bir elektron geçişinin sağlanması, yüksek frekanslı ışığın absorblanmasına bağlıdır. Bu ise ışığa ait dalga boyunun düşük olacağı manasına gelmektedir. Tüm elektromanyetik spektrumlarda enerji - frekans - dalga boyuna ait ilişki Şekil 1. 9'de verilmektedir (wikipedia.org).



Şekil 1.9. Elektromanyetik Spektrumda Enerji-Frekans-Dalgaboyu İlişkisi

1.7. Biyosorpsiyon

Biyosorpsiyon; biyolojik materyallerin, sulu çözeltilerdeki atık maddelerin hücre yüzeyi veya içinde akümüle edilmesidir. Çözeltideki elementleri, hücre duvarlarındaki biyopolimerlerde bulunan kimyasal fonksiyonel gruplarla tutulurlar. Yüzeydeki bu bağlanmalar amin, amid, imidazol, hidroksil, karboksil, fosfat, tiyoeter ve diğer fonksiyonel gruplarla gerçekleşir. Bu iyonların biyosorpsiyonu genel olarak adsorpsiyon, iyon değiştirme, kompleksasyon ve mikroçökeltme olaylarını ihtiva etmekte olup, hızlı ve tersine döndürülebilir bir olaydır (Volesky, 1987).

Bakteri, alg, mantar ve maya gibi mikroorganizmalar canlı ve ölü haldeyken metalleri adsorplama veya tutma özelliğine sahiptir. Bunun yanında, mikroorganizmaların salgıladığı metabolit, polisakkarit gibi ürünler ile mikroorganizmaların hücre duvarları da aynı işleve sahiptir. Mikroorganizmaların bu özelliğinden, sanayide atık su arıtımında ve maddi değeri yüksek metallerin geri kazanılmasında oldukça yaygın olarak yararlanılmaktadır (Bağ, 1998).

Mikroorganizmaların metalleri tutmasına “biyosorpsiyon” denir. Mikroorganizmaların metalleri biyosorpsiyon yoluyla tutması, çeşitli mekanizmalarla olur. Bunlardan başlıcaları, metallerin hücre duvarına adsorpsiyonu ile taşıma ve hücrenin salgıladığı metabolitlerle çöktürme gibi metabolizmaya bağlı mekanizmalardır. Bazı genel ortak yönleri olması yanında, mikroorganizmaların metal tutuklama kapasitesi ve mekanizmalarında birçok farklılıklar bulunmaktadır. Her ne kadar hem canlı hem de ölü mikroorganizmalar metalleri tutma özelliğine sahip olsa da bunların metalleri tutuklama mekanizmaları farklıdır (Eccles, 1999).

Mikroorganizmaların metalleri tutması iki şekilde olur:

1.7.1. Metabolizmaya bağlı olmayan metal tutması

Bu tür metal tutma genellikle ölü mikroorganizmalarda, hücre duvarının dış yüzeyine metallerin adsorpsiyonu şeklinde gerçekleşir. Bunun yanında, canlı mikroorganizmalar da adsorpsiyonla metal tutabilmektedir. Metallerin metabolizmaya bağlı olmadan adsorpsiyonla tutunması çok hızlı olur.

1.7.2. Metabolizmaya bağlı olan metal tutması

Bu tür metal tutma, canlı mikroorganizmalarda metallerin hücre zarından hücre içine taşınması şeklinde gerçekleşen yavaş bir olay olup, sıcaklık ve canlılar için gerekli olan besin kaynaklarının yeterli olmamasından etkilenir. Birçok canlı ya da ölü

mikroorganizmada kurşun, uranyum ve toryum gibi metallerin tutunması yüzeye adsorplanma şeklinde olur. Difüzyon dışında metallerin hücre içine alınması nadiren olur (Karadağ, 2002).

1.8. Amberlite XAD Türü Reçineler

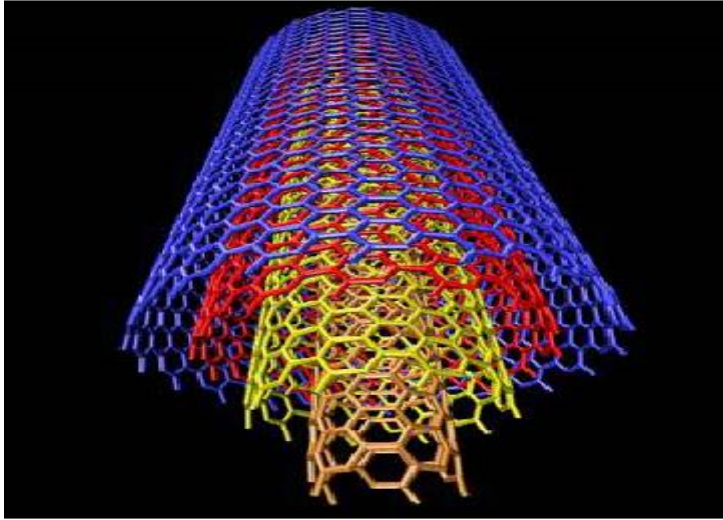
Farklı monomerler kullanılarak elde edilen Amberlite XAD kopolimerleri geniş yüzey alanlarına, sert ve homojen dağılımlı gözeneğe sahip, çapraz bağlı yapılardır. Organik çözücülere, asidik ve bazik ortamlara karşı kararlı olmaları ve gösterdikleri farklı polarite özellikleri ile son yıllarda ayırma ve zenginleştirme amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Organik esaslı sentetik Amberlite reçinelerini, elde edilışleri ve kullanılışları bakımından iyon değiştirici ve adsorban olmak üzere iki grupta toplamak mümkündür. Her iki yapıdaki Amberlite reçineleri değiştirme/ayırma amaçlı kullanılmaktadır. Adsorban özellikte olanların daha yaygın olduğu literatürden anlaşılmaktadır. Herhangi bir adsorbanın verimi, genel olarak spesifik iç yüzey alanlarına olduğu kadar, spesifik gözenek hacmine ve gözenek büyüklüğü dağılımına da bağlıdır. Bu özellikleri gösteren Amberlite XAD kopolimerlerinden XAD-1, 2, 3, 4, 16 ve 1180 polistiren divinilbenzen reçinesi olup, apolar özelliktedir (Baliza ve ark., 2005).

Metal şelatların adsorban üzerinde tutunmaları iki ayrı teknikte sağlanabilmektedir. Bu tekniklerden biri immobilizasyon tekniğidir. Bu teknikte, öncelikle şelat yapıcı, reçine ile reaksiyona girdirilerek kimyasal bağ ile reçine üzerinde tutunması sağlanır. Daha sonra metal çözeltileriyle işleme tabi tutularak, metal şelatlarının reçine üzerinde oluşması sağlanır. Uygun elüsyon vasıtaları kullanılarak reçine üzerinde tutulan metal şelatları elüe edilir. İmmobilizasyon tekniğinde elüsyon ile şelat yapıcı ligandların da kolondan ayrılması sebebiyle kolonun çok sayıda deney için kullanımı mümkün olmaktadır. Diğer teknikte ise Amberlite XAD reçineleri dolgu maddesi olarak kolona yerleştirilir ve kolondan önceden oluşturulmuş metal şelatlarını içeren çözeltiler geçirilir. Amberlite XAD reçineleri metal şelatlarının adsorplanması şeklinde yaygın olarak kullanılabileceği gibi, çeşitli elementlerin değişik ortamlarda halojeno kompleksleri şeklinde de tutma özelliğine sahiptir. Bu çalışmada XAD-4 reçinesi kullanılmıştır (Hüsniye, 2013).

1.9. Karbon Nanotüpler (KNT)

1991’de elektron mikroskobu uzmanı Sumia Iijima’nın fullerenlerin (katı karbon allotropu) ark buharlaşması sentezi sırasında katodda biriken malzemeyi araştırma sırasında bulunmuştur ve çok duvarlı karbon nanotüplerin oluştuğunu görmüştür (Iijima, 1991).

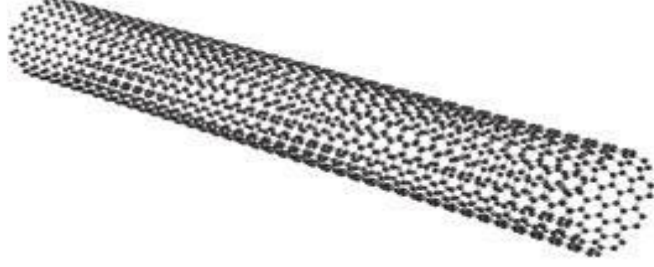
Karbon nanotüpler, karbon atomlarından meydana gelmiş duvarlarla oluşturulmuş içi boş silindirlerdir. Çapları 0,7 – 10 nm ve uzunlukları mikrometrik seviyelerdedir. Bir karbon nanotüp grafit tabakalardan oluşmaktadır. Temel bir grafit tabakasında karbon atomları birbirleri arasında sp^2 hibritleşmesi yaparak hekzagonal simetri oluşturur. Bu katman silindirik şekilde yuvarlanarak iç içe geçer ve bazı durumlarda her biri yarı bir fulleren ile sonlanır. Bir grafen 23 katmanı basınç altında oldukça dayanıklı olmasıyla birlikte esnek bir yapıya sahiptir (Brechignac ve ark., 2006).



Şekil 1.10. Çok duvarlı karbon nanotüp

Karbon nanotüpler; tek duvarlı karbon nanotüpler ve çok duvarlı karbon nanotüpler olarak ikiye ayrılmaktadır. Tek duvarlı bir karbon nanotüp, tek bir grafit tabakasının her iki kenarından fulleren uçları ile kendi etrafında döndürülmüş halidir. Çok duvarlı karbon nanotüpler ise farklı çaplardaki tek duvarlı karbon nanotüplerin iç

içe geçmiŐ halidir. Şekil 1. 10 çok duvarlı karbon nanotüpün yapısını, Şekil 1. 11 ise tek duvarlı karbon nanotüp yapısını göstermektedir.



Şekil 1.11. Tek duvarlı karbon nanotüp

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Wales ve Sagar (1990), mikro mantar filtreler kullanılarak çeşitli metal iyonlarının geri kazanımı konusunda çalışmalarda mevcuttur.

Francis (1994), mikroorganizmaların, radyoaktif atıklarda bulunan organik ve inorganik bileşikleri transformasyon yeteneği olduğu bulunmuştur. Farklı metallerin biyotransformasyonunun, ortamda bulunan mikroorganizma türüne, uygun elektron akseptör ve donörlerin varlığına, ortam pH'ı, sıcaklık ve nem gibi dış faktörlere bağlı olduğu göstermiştir.

Hu ve Reeves (1997), Kontamine atık sulardan çözünmüş uranyumun uzaklaştırılması için, immobilize *Pseudomonas aeruginosa* kullanımı ve biyosorpsiyon işlemlerini etkileyen farklı parametrelerin etkilerini incelenmişlerdir.

Bustard ve McHale (1998), çeşitli biyokütlelerin Cu, Zn, Fe, Pb ve Ag gibi metaller için biyosorbent özellikleri araştırılmış ve biyosorpsiyon izotermeleri kullanılarak metallerin bağlanma çalışmaları yapılmıştır.

Tucker ve ark. (1998), Sulu çözeltilerden uranyum ve molibdenin, kolonda tutuklanmış *Desulfovibrio desulfuricans* kullanılarak giderilmeleri araştırmışlardır. Geri alım için en uygun pH aralığını 4-6 olarak tespit etmiştir. pH 6 dan sonra keskin düşüş izlemiştir.

Hassen ve ark. (1998), kirletilmiş çevrelerde sıklıkla bulunan ağır metallerin, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus thuringiensis* tarafından biyosorpsiyonunu çalışmışlardır. Bu metallerin, bakteri gelişimi, kuru hücre miktarı, amonyum asimilasyonu, pigment üretimi ve protein sentezi üzerine etkilerini çalışmışlardır. MIC değerinden daha düşük metal konsantrasyonlarının kısmi olarak bakteriyel gelişimi kısıtladığını ve uygulanan metal konsantrasyonun da kısmi bir inhibisyona neden olduğunu görmüşlerdir. Bakteriyel biyokütlenin üretimi; ağır metal konsantrasyonuna, ürettiği ortama ve çalışılan bakteriyel ırka göre değişkenlik gösterdiğini belirtmişlerdir.

Ishikawa ve ark. (2002), Uranyum ve toryumun geri kazanılmasında dört farklı biyopolimer incelenmiş ve uranyum için tavuk yumurta kabuğu membranında %98 oranında, toryum için ipek proteininde %79 oranında en yüksek giderimin olduğunu tespit etmişlerdir.

Karadağ (2002), Uranyumun geri kazanılmasında serbest ve tutuklanmış alglerin biyokütle olarak kullanılabilirliğini araştırmışlardır. *Enteromorpha linza* ve *Gracilaria convoides* kullanılarak, sulu çözeltilerden uranyumun biyosorpsiyonu etkileyen çeşitli parametreleri ve bu alglerin uranyumun geri kazanılmasında biyokütle olarak kullanılabilirliğini incelemiştir.

Yılmaz (2003), ağır metallere dirençli olan *Bacillus* sp. varyete EB1'i Türkiye'nin güneydoğu bölgesinden ağır metal kontamine olmuş topraktan izole etmiştir. 16S RNA sekans analizi sonucu bu mikroorganizmanın *B. circulans* ile ilişkili olduğunu göstermiş ve bu bakterinin minimum inhibisyon konsantrasyonunu (MIC) belirlemiştir. *Bacillus* EB1'in metaller için yüksek MIC ve antibiyotikler için ise geniş bir spektrum değerleri gösterdiğini bulmuştur.

Nakajima ve Tsurut (2004), onsekiz bakteri türünü, toryum ve uranyum adsorblanma yeteneklerini belirlemek amacıyla incelemişlerdir. Toryum için *Arrobacter nicotinae* ve *Micrococcus luteus*, uranyum için ise *Arrobacter nicotinae*'nin yüksek adsorpsiyon kapasitesi gösterdiğini tespit etmişlerdir. Hem toryum hem de uranyum adsorpsiyonunun *Micrococcus luteus* hücreleri tarafından hızlı bir şekilde gerçekleştiğini, adsorpsiyonun solüsyon pH'sından etkilendiğini tespit etmişlerdir. Toryum'un bu yarışmalı adsorpsiyonda uranyumdan daha hızlı bir adsorpsiyon ve daha yavaş bir desorpsiyon oranı gösterdiğini belirtmişlerdir.

Starvin ve Rao (2004), modifiye aktif karbon kullanarak katı faz ekstraksiyon yöntemiyle uranyumun prekonsantrasyonlarını çalışmışlardır. Arsenazo-III kullanarak UV-spektrofotometrede uranyumu tayin etmişleridir. Optimum pH ve eluenti sırasıyla 4.0-5.0 ve 1 M HCl olarak tespit etmişlerdir. Geliştirdikleri yeni yöntemi toprak ve sediment numunelerindeki uranyum analizi için başarılı bir şekilde uygulamışlardır.

Türköze (2006), alg (*Jania rubens*), Maya (*Saccharomyces cerevisiae*) kompozit biyosorbenti oluşturmada etkili olan alg/maya oranı (m/m), adsorpsiyon verimi ve fiziksel özellikleri göz önüne alınarak, 1/2,5 (m/m) ve bu karışımla en uyumlu destek materyalinin silikajel olduğu belirlenmiştir. Hazırlanan kompozit biyosorbentin su ile şişme hacmi 3,5 mL/g olarak bulunmuştur.

Türközü (2006), deniz makro alglerinin ve mayaların radyonüklitleri/metal iyonlarını biyosorpsiyon yeteneklerinden yola çıkarak; makro alg, maya ve silika jel destek materyali kullanılarak hazırlanan bir biyokompozitin, sulu seyreltik ortamlardan uranyum iyonlarının biyosorpsiyonu üzerine etki eden farklı deneysel parametreleri

incelemiş, adsorpsiyon izotermelerine uygunluğunu test etmiş ve termodinamik parametreleri hesaplamıştır.

Akhtar ve ark. (2009), *Trichoderma harzianum*'u Ca-aljinata üzerine immobilize ederek kirletilmiş sulardan uranyumun giderilmesi ve geri kazanılmasını incelemişlerdir. Biokütle miktarı, elüent cinsi (HNO₃ ve HCl), sıcaklık gibi parametreleri değerlendirmiştir. Elüent cinsi olarak 1M HCl kullanmıştır.

Donat ve ark. (2009), ucuz, bol bulunan ve doğal bileşenler olan sepiolite, CaSO₄2H₂O, diatomitin aljinatla kaplanmasıyla hazırlanan biyo-kompozitin U(VI) biyosorpsiyonunu araştırmışlar ve ekonomik yeni bir biyosorbent olarak kullanılabilirliği önermişlerdir.

Sezer (2009), İzmir Körfezi'nden toplanan ve kahverengi bir alg olan *Cystoseira sp.*'nin saf ve kimyasal olarak modifiye edilmiş formları kullanılarak, sulu çözeltiden uranyumun alım ve geri alım süreçleri incelenmiştir. Saf ve kimyasal modifiye edilmiş makro algin uranyumun geri kazanılmasında biyosorbent olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır.

Sezer (2009), uranyum biyosorpsiyonunda serbest ve kimyasal olarak ön işleme tabi tutulmuş kahverengi makro alglerin biyokütle olarak kullanılabilirliğini araştırmıştır. Modifiye *Cystoseira sp.*'nin uranyum geri kazanım verimini etkileyen parametreleri incelenmiş, adsorpsiyon verilerinin adsorpsiyon izotermelerine uygunluğu araştırarak, termodinamik parametreleri hesaplanmıştır.

Liu ve ark. (2010), *Saccharomyces cerevisiae* kullanarak uranyum biyosorpsiyonu çalışmışlardır. Ayrıca kültür şartlarındaki *S. cerevisiae*'nin yüzey etkileşimlerini test etmişlerdir. SEM analizleri sonucunda uranyumun maya hücrelerinin yüzeyi ile etkileştiği ve –O–H, –C=O ve –PO⁻² gruplarının uranyumun bağlaması için önemli olduğunu belirtmişlerdir.

Ozdemir ve ark. (2010), Bir radyonüklit olan toryumun Amberlite XAD-4 üzerine tutuklanmış *Bacillus sp.* ile katı faz ekstraksiyonunu çalışmışlardır. Arsenazo III kullanarak toryumun UV-spektrofotometrik olarak tayinini araştırmışlardır.

Tayyebi ve ark. (2010), uranyumun sulu çözeltilerden giderilmesi için kalsiyum aljinat içerisine doğal bentonit immobilize edilerek yeni mikroküresel adsorban geliştirilmişlerdir.

Ozdemir ve Kılınç (2012), uranyumun Amberlite XAD-4 üzerine immobilize edilmiş termofilik *Geobacillus thermoleovorans* ile katı faz ekstraksiyonu ve

spektrofotometrik tayinini araştırılmışlardır. Van Göl'ü su örneği doğal numune olarak kullanılarak bu ekonomik değere sahip olan iyonun önderiştirilmesi çalışılmış ve ulusal kaynakların kullanımını test etmişlerdir.

Ozdemir ve ark. (2012), termofilik *Geobacillus toebii* subsp. *decanicus* ve *Geobacillus thermoleovorans* subsp. *stromboliensis* kullanılarak Cd, Cu, Ni, Mn ve Zn dirençliliği ve bioakümüasyonu çalışılmışlardır. Biyoakümüasyon çalışmasında biyoakümüle edilen metal iyonlarının farklı inkübasyon sürelerinde farklılık gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Sadeghi ve ark. (2012), magnetik Fe₃O₄ nanopartiküllerini sorbent olarak kullanıp uranyumun katı faz ekstraksiyonunu çalışmışlardır. Yüzel yapısı TEM, FT-IR ve XRD analizi ile karakterize edilmiştir. Maksimum adsorpsiyon kapasitesini 12,33 mg/g olarak belirlemişleridir.

Ozdemir ve ark. (2013), bu çalışmada termofilik *Geobacillus thermantarticus* ve *Anoxybacillus amylolyticus* bakterileri kullanılarak Cd⁺², Cu⁺², Co⁺² ve Mn⁺² gibi ağır metallerin dirençlilik ve biyoakümüasyonu çalışılmıştır. Cd⁺², Cu⁺², Co⁺² ve Mn⁺² gibi ağır metallerin çevresel örneklerden arındırılması ve bunun ölçülebilmesi açısından orjinal bir çalışmadır. Metal giderim yüzdelerinin değişik inkübasyon zamanlarında farklılıklar gösterdiğini belirtmişlerdir.

Li ve ark. (2014), *Bacillus* sp. dwc-2 kullanarak uranyum biyosorpsiyonun mekanizmasını incelemişlerdir. TEM, EDX, FT-IR, PIXE ve EPBS gibi farklı analizler yapılmıştır. Bakterinin yüzeyinde bulunan amino, fosfat ve karboksil gruplarının biyosorpsiyondan sorumlu fonksiyonel gruplar olabileceğini belirtmişlerdir.

Ozdemir (2014), Amberlite XAD-4 üzerine tutuklanmış *Coriolus versicolor* fungal biyokütlesi kullanılarak katı faz ekstraksiyon yöntemiyle Lantan(III) iyonlarının seçici prekonsantrasyonu ICP-OES ile belirlenmesini araştırmışlardır.

Ozdemir (2014), bu araştırmada katı faz olarak Amberlite XAD-4 üzerine tutuklanmış *Agaricus bisporus* biyokütlesi kullanılarak katı faz ekstraksiyon yöntemiyle toryumun önderiştirilmesi test etmişlerdir.

Ji ve ark. (2016), *Eichhornia crassipes* kullanarak sulu çözeltilerden uranyum biyosorpsiyonu çalışmışlardır. pH'nın uranyum biyosorpsiyonunda oldukça önemli olduğunu ve uranyum biyosorpsiyonu için optimum pH'yı 5,5 olarak saptamışlardır. FT-IR analizi sonrasında amino, hidroksil ve karboksil gruplarının uranyum biyosorpsiyonundan sorumlu fonksiyonel gruplar olabileceğini belirtmişlerdir.

Li ve ark. (2016), *Streptomyces sporoverrucosus* dwc-3 kullanarak uranyum biyoakümülyasyonunun karakterizasyonunu çalışmışlardır. Bunun için TEM, EDX, FT-IR, XPS, PIXE, EPBS gibi farklı analizler yapılmıştır. Amino, fosfat ve karboksil gruplarının biyosorpsiyondan sorumlu yüzey fonksiyonel gruplar olabileceğini rapor etmişlerdir. 12 saatlik inkübasyon sonrasında 10 mg/L uranyumun %60'nın uzaklaştırıldığı ve biyosorpsiyon kapasitesini 3,0 mg U/ g yaş ağırlık olarak tespit etmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Bakteri İzolasyon İşlemi Ve Saf Kültür Bakteri Üretimi

Şırnak Meryem deresi bölgesinden daha önce izole edilmiş *Bacillus vallismortis* ve *B. mojavensis* çalışmamızda biyolojik materyal olarak kullanılmıştır. Bu iki tür bakteri Nutrient Broth (NB) sıvı besi yerinde 45°C'de 24 saat inkübe edilerek çalkalayıcıda 120 rpm'de üretildi.

3.2. Besiyeri Maddeleri

NB ve NB Agar, besiyeri olarak uygun görüldü.

3.2.1. Sıvı besiyeri

8 gram NB, çeşme suyu ile 1 litre olacak şekilde bir çözelti hazırlandı. Otoklavda steril edilip kullanıma uygun hale getirildi.

3.2.2. Katı besiyeri [Nutrient broth agar (NB)]

8 g NB'e 15 gram agar ilave edilip, çeşme suyu ile 1 litreye tamamlanarak otoklavlandı. Bu işlemten sonra steril petri kaplarına aktarımı yapıldı.

3.3. Bakteri Üretimi

Tek kullanımlık steril öze yardımıyla katı besiyerinden Nutrient Broth besiyerine ekim yapıldı. Çalkalayıcıda 120 rpm'de 35 °C'de 16 saat inkübe edildi. 16 saat sonunda bu besiyerinden 200 µL ($3,7 \times 10^7$ CFU) alınarak önceden otoklavlanmış sıvı besiyerlerine ekim yapılarak bakteri üretimi sağlandı.

3.4. *B. vallismortis* ve *B. mojavensis*'in Minimum İnhibe Edici Konsantrasyonlarının (MIC) Belirlenmesi

Bakteri üremesini inhibe etmek için gerekli en düşük metal konsantrasyonuna minimum inhibisyon konsantrasyonu denir. Uranyumun her iki termotolerant bakteriler üzerine olan minimum inhibisyon konsantrasyonlarını (MIC) tespit etmek için farklı konsantrasyonlarda uranyum içeren katı besiyerleri hazırlandı. Sonra uygun sıvı besiyerinde üretilmiş bakteriler değişik konsantrasyonlarda uranyum içeren katı

besiyerlerine ekim yapıldı. Aynı işlem sıvı besiyeri için de tekrar edildi ve 72 saat inkübasyon süresinden sonra bakterilerin üremediği en düşük uranyum konsantrasyonu minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) olarak tespit edildi (Ozdemir ve ark., 2012).

3.5. Farklı Uranyum Konsantrasyonlarının *B. vallismortis* ve *B. mojavensis* Üremesi Üzerine Olan Etkisinin İncelenmesi

B. vallismortis ve *B. mojavensis* sıvı besiyerinde belli bir ön inkübasyondan sonra değişik konsantrasyonlarda uranyum içeren sıvı besiyerine ekim yapılarak uygun inkübasyon koşullarında 12, 24, 36, 48, 72 ve 96. saate kadar üretilip 540 nm'de absorbans değerleri ölçülerek zamana karşı OD değerleri kullanılarak büyüme eğrileri oluşturuldu.

3.6. % Uranyum gideriminin Ve Biyoakümüülasyonunun Tespit Edilmesi

B. vallismortis ve *B. mojavensis* sıvı besiyerinde belli bir ön inkübasyondan sonra farklı konsantrasyonlarda uranyum içeren besiyerine aktarılarak uygun inkübasyon koşullarında 96. saate kadar üretilenler. 0. saatten 96. saate kadar 12., 24., 36., 48., 72., ve 96. saatlerde örnek alınıp 10000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Üst sıvıdan örnek alındı ve örneklerdeki uranyum konsantrasyonları UV-spektrofotometrik olarak tespit edilerek % uranyum giderimi hesaplandı. Uranyum biyoakümüülasyonu için öncelikle pelet tartılarak yaş ağırlık tespit edildi. Pelet % 0,9'luk NaCl ile 1 kez yıkanıp ve besiyeri kontaminatları uzaklaştırılarak 7000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip pelet 80 °C'de bir gece kurumaya bırakıldı. Kuru ağırlık tespit edildikten sonra 600 °C'de 4 saat kül fırınında kavruldu. Sonra 0,5 mL konsantre nitrik asit (14,4M) ilave edilerek 30 dakika bekletildi. Sonra hacim saf su ile 5 mL'ye tamamlandı ve yaklaşık 1 saat ısıtılarak uranyum çözünürleştirilip son hacim saf su ile 3 mL'ye tamamlanarak uranyum biyoakümüülasyonu tespit edildi (Ozdemir ve ark., 2013).

3.7. Uranyumun UV-Spektrofotometrik Olarak Tayini

1 mL uranyum çözeltisine 1 mL 2 molar HCl çözeltisi eklenir. Karışımın üzerine 250 µL yüzde 0.1'lik Arsenoz III eklenir. Daha sonra herbir tüpe 2750 µL distile su ilave edildikten sonra 10 dakika oda sıcaklığında beklenir. Süre sonunda uranyum miktarı UV-spektrofotometrik olarak 651 nm'de ölçülerek tespit edilir (Ozdemir ve Kilinc, 2012).

3.8. Farklı Uranyum Konsantrasyonlarının α -Amilaz Enzim Üretimi Üzerine Etkisinin Araştırılması

B. vallismortis ve *B. mojavensis* sıvı besiyerinde belli bir ön inkübasyondan sonra farklı konsantrasyonlarda uranyum tuzlarını içeren besiyerine aktarılarak uygun inkübasyon koşullarında 96. saate kadar üretildi. 0. saatten 96. saate kadar 12., 24., 36., 48., 72., ve 96. saatlerde kültürlerden örnek alınıp 10000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Üst sıvı, enzim aktivite deneylerinde kullanılmak üzere ayrıldı. (Ozdemir ve ark., 2011).

3.9. Amilaz Enzimi Aktivite Tayini (Bernfeld Yöntemi, 1955)

Enzim aktivitesi Bernfeld yöntemine göre belirlendi. (Bernfeld, 1955). Bu yöntemle göre 100 μ L enzim çözeltisi (üst sıvı) ve 200 μ L % 0,5'lik nişasta çözeltisi 70 °C'de 30 dakika inkübe edilir. Süre sonunda reaksiyonu durdurmak için, 400 μ L 3,5 dinitro salisilik asit (3,5 DNS) ilave edilerek 5 dakika kaynar su banyosunda bekletilir. 3,5 DNS, düşük sıcaklıklarda indirgen şeker uçlarıyla reaksiyona girmediğinden kaynar su banyosuna konulur. 5 DNS sıcakta şekerlerin indirgen uçlarıyla reaksiyona girerek reaksiyonun durmasını sağladığı gibi aynı zamanda renk oluşumunu da sağlamaktadır. Daha sonra 3 mL distile su ile seyreltme yapılarak 489 nm'de spektrofotometrik ölçüm yapılır. α -amilaz için 1 Ünite Enzim: 1 μ mol nişastayı 30 dakikada maltoz birimlerine parçalayan α -amilaz enzim miktarıdır (U/mg).

3.10. Bernfeld Reaktifinin Hazırlanması

20 g 3,5 dinitro salisilik asit 400 mL distile su içinde çözünür. Başka bir beherde 32 g/300 mL NaOH çözeltisi magnetik karıştırıcı ile karıştırılır. Daha sonra yavaş yavaş 3,5 dinitro salisilik asit üzerine eklenir. Bir süre sıcak su banyosunda bekletilir. Sonra 600 g Na-K-Tartarat azar azar eklenir. Hacim saf su ile 2000 mL'ye tamamlanır (Bernfeld, 1955).

3.11. Kurutulmuş Ölü *B. vallismortis* ve *B. mojavensis* Hücrelerinin Uranyum Katı Faz Ekstraksiyonu İçin Hazırlanması

B. vallismortis ve *B. mojavensis* uygun besiyerinde ve belli bir inkübasyon süresinde (24 saat) üretilerek 7000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst sıvı uzaklaştırıldıktan sonra pelet % 0,9 luk NaCl çözeltisi (121 °C'de 15 dakika otoklavlanmış) ile yıkanarak ve tekrar santrifüj edildi. Bu işlem iki kez tekrar edilip, daha sonra pelet 80 °C'de bir gece bekletilip kurutularak 121 °C'de 20 dakika otoklavlandı. Bu işlemden sonra bakteri hücreleri (bakteri hücrelerinin çoğalıp çoğalmadığını tayin etmek amacıyla) sıvı besiyerlerine ekim yapıp üremenin olmadığı (bakterilerin tamamen öldüğü) durum pozitif sonuç olarak kabul edildi (Kilinc ve ark., 2013).

3.12. Ölü (Kurutulmuş) *B. vallismortis* ve *B. mojavensis*'in XAD-4 Ve Çok Duvarlı Karbon Nanotüp (MWCNT) Üzerine Tutuklanması (İmmobilize Edilmesi)

Ticari olarak kullanılabilir Amberlite XAD-4 sırasıyla metanol, su, 1 mol l⁻¹ HCl ve su ile yıkanarak organik ve inorganik kontaminantların uzaklaştırılmasıyla hazırlandı. Daha sonra 200 mg kurutulmuş ve ölü toz haline getirilmiş *B. vallismortis* ve *B. mojavensis* 750 mg Amberlite XAD-4 ile karıştırılarak 5 mL saf su eklenip ve magnetik karıştırıcıda karışım homojen bir pasta haline gelinceye kadar karıştırdı. Daha sonra karışım 105 °C'de 1 saat etüvde kurutuldu. Bu karıştırma ve ısıtma işlemi, *B. vallismortis* ve *B. mojavensis* ve Amberlite XAD-4 arasındaki etkileşimin maksimum olması için birkaç kez tekrarlandı (Ozdemir ve ark., 2016).

Daha sonra 200 mg kurutulmuş ölü *B. vallismortis* ve *B. mojavensis* 150 mg MWCNT ile karıştırılarak 5 mL saf su eklenip ve magnetik karıştırıcıda karışım homojen bir pasta haline gelinceye kadar karıştırıldı. Amberlite XAD-4 ile yapılan işlemler MWCNT için de gerçekleştirildi.

3.13. Kolonun Hazırlanması

Hücre tutuklanmış 200 mg Amberlite XAD-4 ve MWCNT üzerine 3 mL saf su eklenerek bir karıştırıcıda homojen bir hale gelinceye kadar karıştırıldı. Kolon, kullanmadan önce sırasıyla 1 M HCl ve saf su ile iyice yıkanıp, daha sonra karışım 1,0 cm X 10,0 cm boyutundaki polietilen kolona yavaş yavaş eklendi. (Ozdemir ve ark., 2014).

3.14. XAD-4 ve MWCNT Üzerine Tutuklanmış Ölü *B. vallismortis* Ve *B. mojavensis* İle Uranyum Katı Faz Ekstraksiyonu

50 mL 1 mg/L uranyum çözeltilerinin geri kazanımı üzerine farklı pH (2,0-9,0), akış hızı (1-6 mL/dak), biyokütle miktarı (50-500 mg), matriks miktarı (50-1000 mg), eluent hacmi (3 ve 5 mL), eluent tipi (HCl ve HNO₃), eluent konsantrasyonu (0,5 ve 1 M), örnek hacmi (25-500 mL), farklı iyonların etkisi (Na⁺, K⁺, Ca⁺², Mg⁺², Fe⁺², Al⁺³, Cd⁺², Co⁺², Cu⁺², Ni⁺² ve Zn⁺²), kolon kullanımı test edilerek yöntem optimize edildi. Yöntem optimize edildikten sonra sertifikalı referans materyaller ile yöntemin doğruluğu test edildi. Daha sonra kolon kapasitesi ve doğal numunelerdeki uranyum miktarı tespit edildi (Ozdemir ve ark., 2016).

3.14.1. Ph etkisi

50 mL 1 mg/L uranyum çözeltilerinin pH'ları 0,1M HCl ve HNO₃ ile pH (2,0-9,0)'a ayarlandı. Her bir pH çözeltisi hazırlanmış olan katı faz ekstraksiyon kolonlarına 1m/dk'lık akış hızında kolondan geçirildi. Daha sonra 1 M 5ml HCl ile geri alındıktan sonra uranyum miktarları UV-spektrofotometre ile tayin edildi.

3.14.2. Akış hızı

Her bir katı faz ekstraksiyon kolonu için tespit edilen optimum pH larındaki 50 mL 1 mg/L uranyum çözeltileri 1-6 mL/dk'lık farklı akış hızlarında kolondan geçirildi. Daha sonra 1 M 5 mL HCl ile geri alındıktan sonra uranyum miktarları UV-spektrofotometre ile tespit edildi.

3.14.3. Büyütle miktarı

Farklı miktarlarda biyokütle yüklenmiş (50-500 mg arası) katı faz ekstraksiyon kolonlarından 50 mL 1 mg/L uranyum çözeltileri en uygun şartlarda katı faz ekstraksiyon kolonundan geçirildi. Daha sonra 1 M 5 ml HCl ile geri alındıktan sonra uranyum miktarları UV-spektrofotometre ile saptandı.

3.14.4. Matriks miktarı

Farklı miktarlarda matriks miktarına sahip (50-1000 mg arası) kolonlardan 50 mL 1 mg/L uranyum çözeltileri optimum koşullarda kolondan geçirildi. Daha sonra 1 M 5mL HCl ile geri alındıktan sonra uranyum miktarları UV-spektrofotometre ile belirlendi.

3.14.5. Elüent hacmi, tipi ve konsantrasyonu

Bu çalışmada 50 mL 1 mg/L uranyum çözeltileri optimum koşullarda kolondan geçirildi ve farklı konsantrasyon ve hacimlerdeki HCl ve HNO₃ ile U(VI)'ın geri kazanımı için eluent solüsyonu olarak test edildi.

3.14.6. Örnek hacmi

Farklı miktarlarda örnek hacimleri (25-500 mL) optimum katı faz ekstraksiyon koşullarında kolondan geçirildi. Daha sonra 1 M 5mL HCl ile geri alındıktan sonra uranyum miktarları UV-spektrofotometre ile tespit edildi. En uygun örnek hacmi seçildi

3.14.7. Kolon kapasitesi

50 mL 1 mg/L uranyum çözeltileri en uygun pH'a optimize edilip 5 mL/dk olacak şekilde kolondan geçirildi. Daha sonra 1 M 5mL HCl ile geri alındıktan sonra uranyum miktarları UV-spektrofotometre ile tespit edildi. Kolon kapasitesi geri alım yüzdesine göre hesaplandı.

3.14.8. Farklı iyonların etkisi

50 ml 0,1 mg/L lik uranyum çözeltilisine Aşağıdaki Tablo 3.7'de oranları verilen farklı iyonların; Na⁺, K⁺, Ca⁺², Mg⁺², Fe⁺², Al⁺³, Cd⁺², Co⁺², Cu⁺², Ni⁺² ve Zn⁺², iyonlarının Uranyumun geri kazanımı üzerine optimum koşullarda test edildi.

Tablo 3.1. Farklı iyonların miktarlarının etkisi

<u>Yabancı İyonlar</u>	<u>Yabancı iyon/U(VI) oranı</u>
Na ⁺	5,000
K ⁺	5,000
Ca ⁺²	200
Mg ⁺²	100
Fe ⁺²	100
Al ⁺³	25
Cd ⁺²	5
Co ⁺²	5
Cu ⁺²	5
Ni ⁺²	5
Zn ⁺²	5

3.14.9. Kolon kullanımı

50 mL 1 mg/L uranyum çözeltileri en uygun pH'a optimize edilip 5 mL/dk olacak şekilde kolondan geçirildi. Daha sonra 1 M 5mL HCl ile geri alındıktan sonra uranyum miktarları UV-spektrofotometre ile tespit edildi. 40 defaya kadar olan kullanımda kolondaki geri alım miktarı hesaplandı. Yapılan hesaplamalarla kolonun kullanım tekrarı hesaplandı.

3.14.10. Sertifikalı referans materyaller ile yöntemin doğruluğunun tespiti

Geliştirilen yeni yöntemin doğruluğu sertifikalı referans maddelerin analizi ve doğal su örneklerinde geri kazanma çalışması ile onaylandı. Su (NWTM-15), Deniz suyu (CASS-4), Sertifikalı çay örneği (NCSZC 73014), NWTM-15 (Fortified water) ve NCS ZC73014 (Tea Sample) gibi farklı sertifikalı referans materyal kullanılarak U(IV) konsantrasyonu tespit edilerek geliştirilen yeni yöntemin doğruluğu onaylandı.

3.14.11. Numunelerdeki uranyum tespiti

Daha önce Van gölünden alınan numunelerin her birinin 500 mL'lik kısmı 5 mL/dk olacak şekilde kolondan geçirildi. Daha sonra 1 M 5mL HCl ile geri alındıktan sonra uranyum miktarları UV-spektrofotometre ile tespit edildi.

3. 15. Kullanılan Aletler

Steril Kabin (NUVE LN 090)

Spektrofotometre (SHIMADZU UV MİNİ-1240)

Çalkalayıcı (JEIO TECH SI-600)

Soğutmalı Santrifüj (EPPENDORF CEBTRIFUGE 5430R)

Vorteks (JEIO TECH VM-96B)

Magnetik Karıştırıcı (WISESTIR MSH-20D)

Etüv (NUVE EN 400, NUVE EN 500)

Digital Göstergeli Hassas Terazi (SHIMADZU AU X220)

Otoklav (NUVE OT 4060V)

Çalkalamalı Su Banyosu (NUVE ST402)

pH metre (HM DIGITAL PH-200)

Kül Fırını (Heraus)

Ultrasantrifüj (Ependorf)

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. *B. vallismortis* ve *B. mojavensis* Kullanarak U(VI) İçin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MIC)

Tablo 4. 1. ve 4. 2'de 96 saatlik inkübasyon süresi sonrasında katı besiyerlerinde elde edilen minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) deneyi sonuçları görülmektedir. Bu sonuçlara göre; *B. vallismortis* ve *B. mojavensis* için U(VI) MIC değerleri sırasıyla; 82,5 mg/L ve 85 mg/L olarak bulunmuştur. Aynı zaman sıvı besiyerlerinde de *B. vallismortis* ve *B. mojavensis* için U(VI) MIC test edilmiş ve sırasıyla MIC değerleri 15 mg/L ve 12,5 mg/L olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre katı besiyerinde *B. mojavensis*'in *B. vallismortis*'e göre ve sıvı besiyerinde ise *B. vallismortis*'in *B. mojavensis*'e göre daha dirençli olduğu tespit edilmiştir. 96 saat inkübasyon süresi sonrasında U(VI)'nin MIC sonuçlarını karşılaştırınca test edilen her iki bakteri türünün de sıvı besiyerinde, katı besiyerine göre daha duyarlı oldukları saptanmıştır. Benzer sonuçlar Yılmaz (2003) ve Özdemir ve ark., (2013) tarafından rapor edilmiştir.

Tablo 4.1. *B. vallismortis* için Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MIC) Değerleri

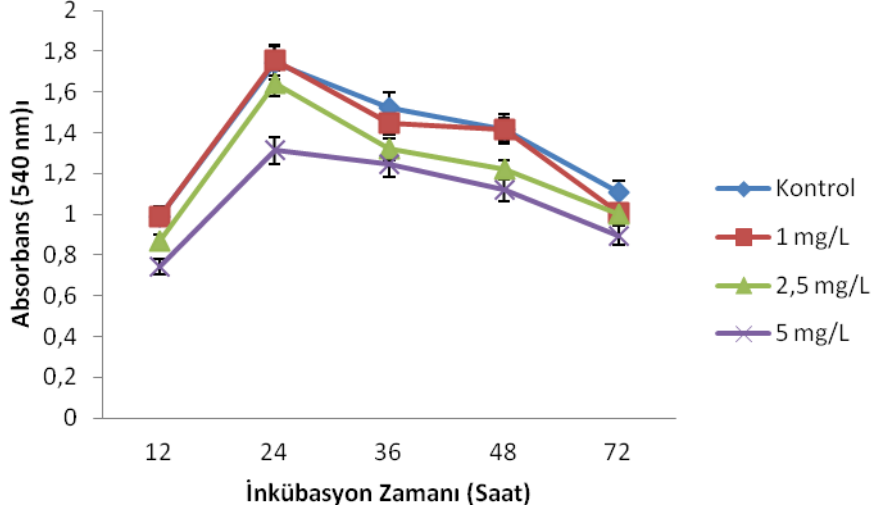
Konsantrasyon (mg/L)	Zaman (Saat)			
	24	48	72	96
1	+	+	+	+
2.5	+	+	+	+
5	+	+	+	+
7.5	+	+	+	+
10	+	+	+	+
15	+	+	+	+
20	+	+	+	+
25	+	+	+	+
30	+	+	+	+
35	+	+	+	+
40	+	+	+	+
45	+	+	+	+
50	+	+	+	+
55	+	+	+	+
60	+	+	+	+
65	+	+	+	+
70	+	+	+	+
75	-	+	+	+
80	-	+	+	+
82.5	-	-	-	-
85	-	-	-	-
90	-	-	-	-

Tablo 4.2. *B. mojavensis* için Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MIC) Değerleri

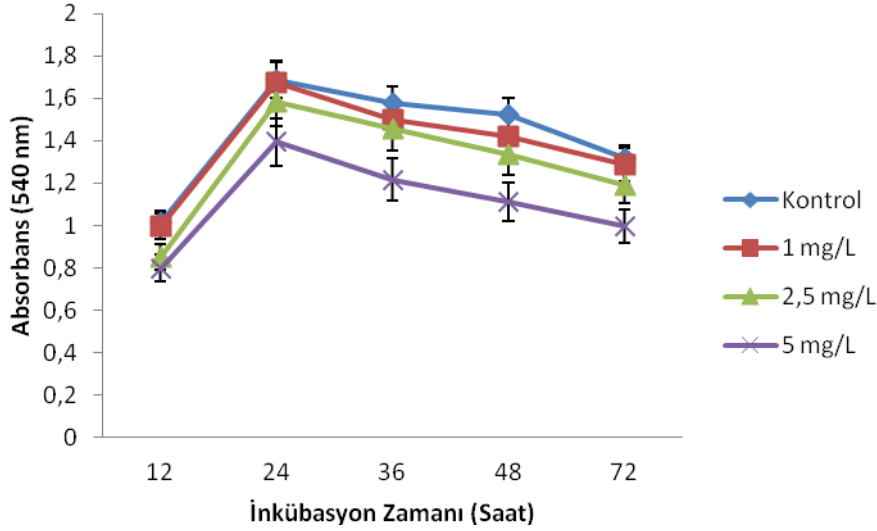
Konsantrasyon (mg/L)	Zaman (Saat)			
	24	48	72	96
1	+	+	+	+
2.5	+	+	+	+
5	+	+	+	+
7.5	+	+	+	+
10	+	+	+	+
15	+	+	+	+
20	+	+	+	+
25	+	+	+	+
30	+	+	+	+
35	+	+	+	+
40	+	+	+	+
45	+	+	+	+
50	+	+	+	+
55	+	+	+	+
60	+	+	+	+
65	+	+	+	+
70	+	+	+	+
75	-	+	+	+
80	-	+	+	+
82.5	-	+	+	+
85	-	-	-	-
90	-	-	-	-

4.2. Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının *B. vallismortis* ve *B. mojavensis*'in Üremesi Üzerine Etkisi

B. vallismortis ve *B. mojavensis*'in üremesi üzerine farklı konsantrasyonlardaki U(VI)'nin etkisi Şekil 4.1. ve 4. 2.'de görülmektedir. 1 mg/L U(VI)'nin her iki bakteri için kontrole kıyasla çalışılan tüm inkübasyon zamanlarında üremenin etkilenmediği saptanmıştır. 2,5 mg/L U(VI) varlığında, 72 saat'lik inkübasyon süresince *B. vallismortis*'in üremesinin önemli oranda etkilemediği tespit edilmiştir. Bununla birlikte kontrol ile kıyaslandığında 5 mg/L varlığında *B. vallismortis*'in üremesinin 24. saatte %24,7 oranında, 48. saate ise %21,1 oranında inhibe olduğu belirlenmiştir. 2,5 mg/l U(VI) varlığında kontrol ile karşılaştırıldığında *B. mojavensis*'in üremesinin 24., 48., 72. ve 96. saatlerde sırasıyla %6,2, %7,5, %12,4 ve %9,6 oranlarında düştüğü bulunmuştur. 5 mg/L U(VI) varlığında ise kontrol ile karşılaştırıldığında *B. mojavensis*'in üremesinin 12., 24., 48., 72. ve 96. saatlerde sırasıyla %21,5, %17,3, %22,7, %27,1 ve %24,2 oranlarında inhibe olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.1. Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının *B. vallismortis*'un Üremesi Üzerine Etkisi

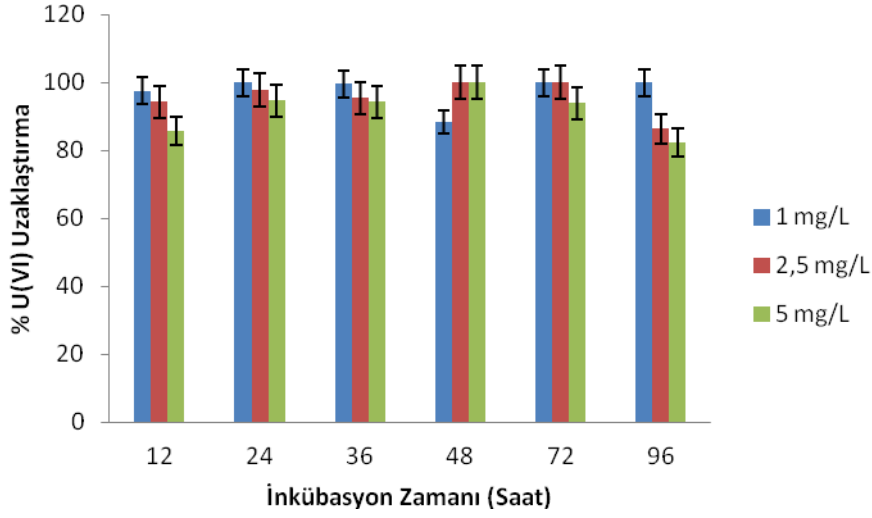


Şekil 4.2. Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının *B. mojavensis*'in Üremesi Üzerine Etkisi

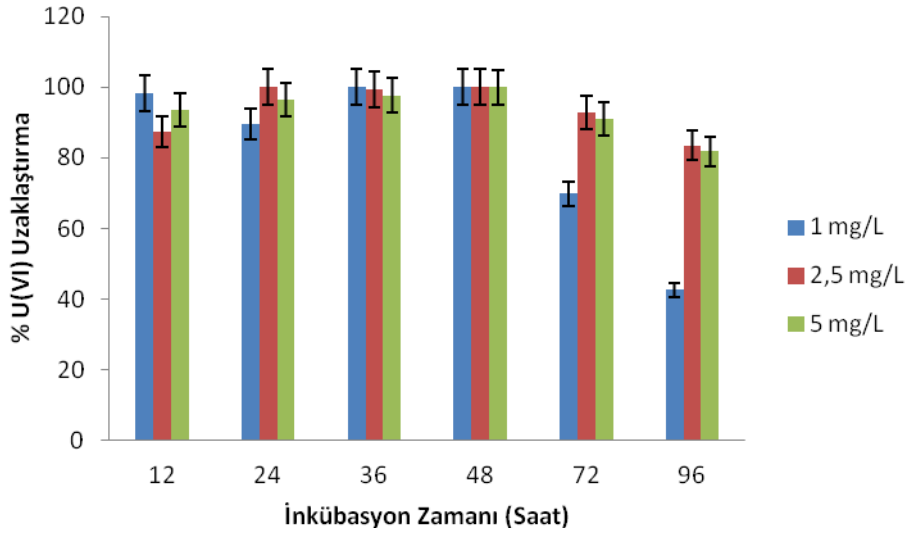
4.3. Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının *B. vallismortis* ve *B. mojavensis* Kullanarak Uzaklaştırılması ve Biyoakümülyasyonu Üzerine Etkisi

Farklı U(VI) konsantrasyonlarının *B. vallismortis* ve *B. mojavensis* kullanarak uzaklaştırılması üzerine etkisi Şekil 4. 3. ve 4. 4.'de verilmiştir. Şekil 4. 3.'de görüldüğü gibi, 96 saatlik inkübasyon süresince 1 mg/L, 2,5 mg/L ve 5 mg/L U(VI) varlığında uzaklaştırma yüzdeleri sırasıyla %88,36 ile %100, %86,28 ile %100 ve %82,47 ile %100 arasında değişiklik gösterdiği saptanmıştır. *B. mojavensis*'in 2,5 mg/L U(VI) varlığında 12., 24., 36., 48., 72. ve 96. saatlerde uzaklaştırma yüzdeleri sırasıyla %87,42, %100, %99,3, %100, %92,87 ve %83,46 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4. 4.). 5

mg/L U(VI) varlığında ise en yüksek uzaklaştırma yüzdesi 48. saatte %99,9 olarak tespit edilmiştir.



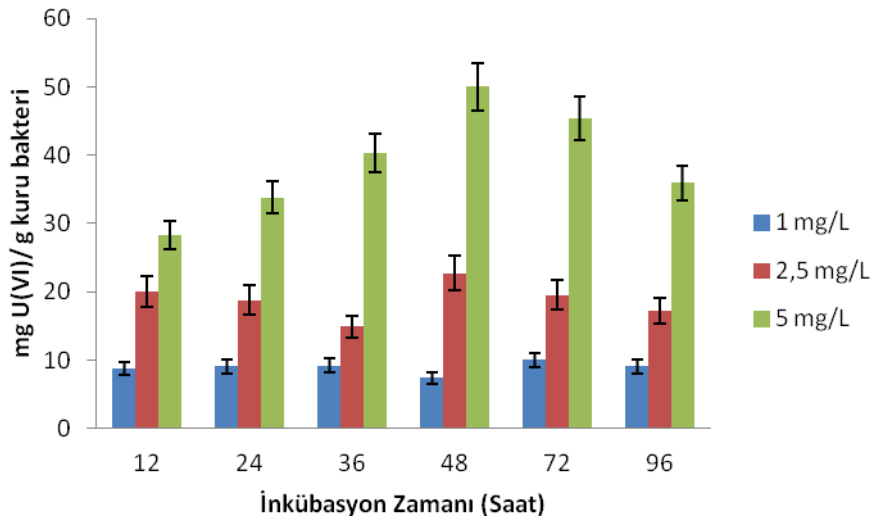
Şekil 4.3. Değişik İnkübasyon Zamanlarında Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının *B. vallismortis* tarafından Uzaklaştırılması



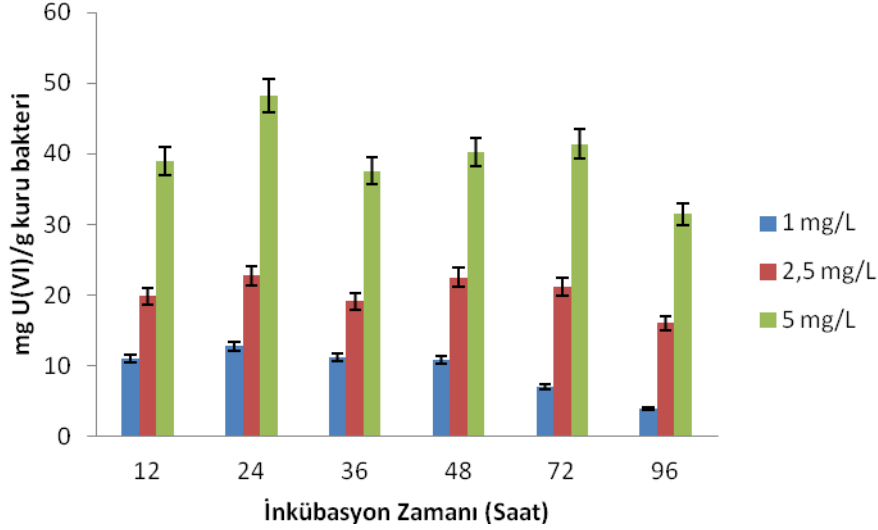
Şekil 4.4. Değişik İnkübasyon Zamanlarında Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının *B. mojavensis* tarafından Uzaklaştırılması

Şekil 4. 5.'de görüldüğü gibi, *B. vallismortis*'in U(VI) biyoakümülyasyonu 1 mg/L konsantrasyonunda 12-36. saatler arasında artmış ve 48. saatte düşüş göstermiştir. 1 mg/L U(VI) konsantrasyonundaki en yüksek biyoakümülyasyon kapasitesi 10 mg U(VI)/g kuru bakteri olarak 72. saatte elde edilmiştir. 2,5 mg/L U(VI) konsantrasyonunda en yüksek U(VI) biyoakümülyasyonu 22,72 mg U(VI)/g kuru bakteri 48. saatte saptanmıştır. U(VI) biyoakümülyasyonu 5 mg/L varlığında 12-48. saatler arasında artarken, bu konsantrasyondaki en yüksek biyoakümülyasyon kapasitesi 50 mg

U(VI)/g kuru bakteri olarak tespit edilmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki U(VI)'nın *B. mojavensis*'in biyoakümülyasyon kapasitesine etkisi Şekil 4. 6.'de görülmektedir. *B. mojavensis*'in biyoakümülyasyon kapasitesi 1 mg/L, 2,5 mg/L ve 5 mg/L U(VI) varlığında üreme periyodunun 12-24. saatleri arasında artış gösterdiği tespit edilmiştir. 2,5 mg/L U(VI) konsantrasyonunda 36. ve 72. saatlerdeki biyoakümülyasyon kapasiteleri sırasıyla 19,1 ve 21,1 mg U(VI)/g kuru bakteri olarak bulunmuştur. En yüksek biyoakümülyasyon kapasitesi 48,21 mg U(VI)/g kuru bakteri 5 mg/L konsantrasyonunda 24. saatte elde edilmiştir. Bu çalışmada uzaklaştırma yüzdesi ve biyoakümülyasyon kapasiteleri her iki bakterinin de farklı üreme periyodlarında azalma ve artma şeklinde farklılıklar göstermiştir. Macaskie ve Dean (1984) ve Volesky ve ark., (1993) yapmış oldukları metal biyoakümülyasyon çalışmalarında bakteri hücrelerinin farklı üreme periyodlarında biyoakümülyasyon seviyelerinde artış ve azalış şeklinde farklılıklar olduğunu tespit etmişlerdir. Bu bulgular yapmış olduğumuz çalışma ile paralellik göstermektedir. Bunlara ilaveten Theodorakopoulos ve ark., (2015), *Microbacterium* sp. A9 ile yapmış oldukları uranyum biyoakümülyasyon çalışmasında uranyum biyoakümülyasyon seviyelerinin farklı inkübasyon zamanlarında farklılık gösterdiği saptamışlar ve bunu uranyum aktif efluks sistemi ile açıklamışlardır. Bu çalışmada da aynı aktif efluks sisteminin aktif rol oynayabileceğini düşünmekteyiz.



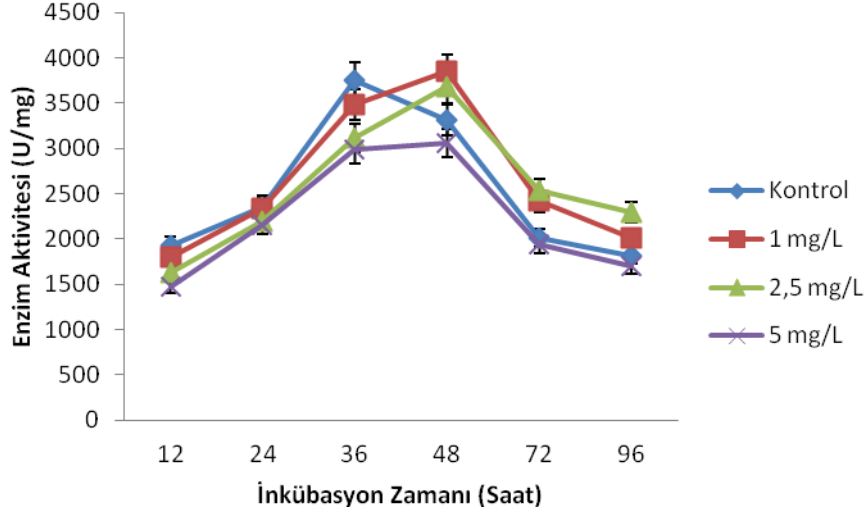
Şekil 4.5. Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının *B. vallismortis*'in Biyoakümülyasyonu Üzerine Etkisi



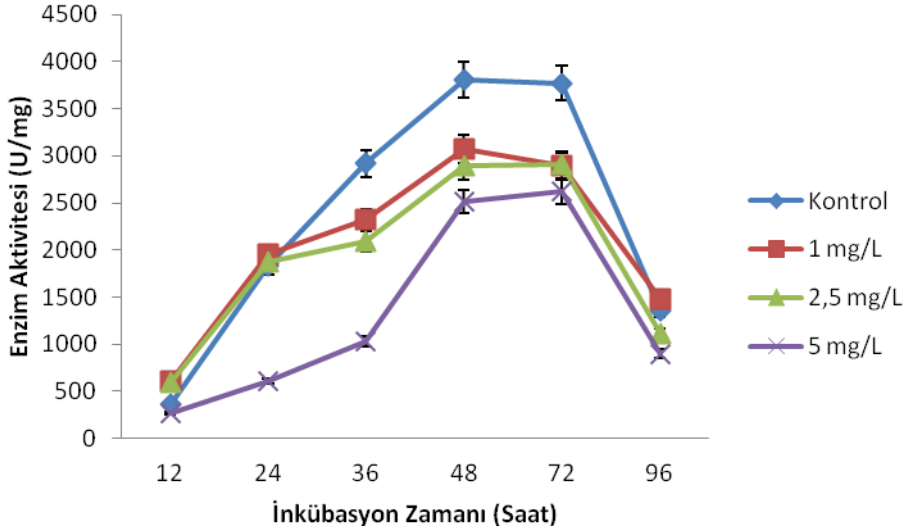
Şekil 4.6. Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının *B. mojavensis*'in Biyoakümüülasyonu Üzerine Etkisi

4.4. Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının *B. vallismortis* ve *B. mojavensis*'in α -amilaz Üretimine Etkisi

Farklı U(VI) konsantrasyonlarının *B. vallismortis* ve *B. mojavensis*'in α -amilaz üretimi üzerine olan etkisi Şekil 4. 7. ve 4. 8.'de verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında 1 mg/L U(VI) varlığında *B. vallismortis* tarafından α -amilaz üretiminin ilk 24 saatte çok az etkilendiği bulunmuştur. En yüksek α -amilaz üretimi 48. saatte 1 mg/L U(VI) varlığında 3845,2 U/mg olarak saptanmıştır. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 2,5 mg/L U(VI) konsantrasyonunda enzim üretimi 48. saatte %10,7, 72. saatte %25,8 ve 96. saatte %26,1 oranlarında artış gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.7.). Şekil 4. 8.'de görüldüğü gibi, *B. mojavensis*'in α -amilaz üretiminin 12. saatte 1 mg/L ve 2,5 mg/L U(VI) varlığında kontrol ile karşılaştırıldığında sırasıyla %66,2 ve %64,2 oranında artış gösterdiği belirlenmiştir. Çalışılan tüm konsantrasyonlarda 36., 48., ve 72. saatlerde enzim üretiminin kontrole göre daha düşük olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.7. Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının *B. vallismortis*'in α -Amilaz Üretimi Üzerine Etkisi



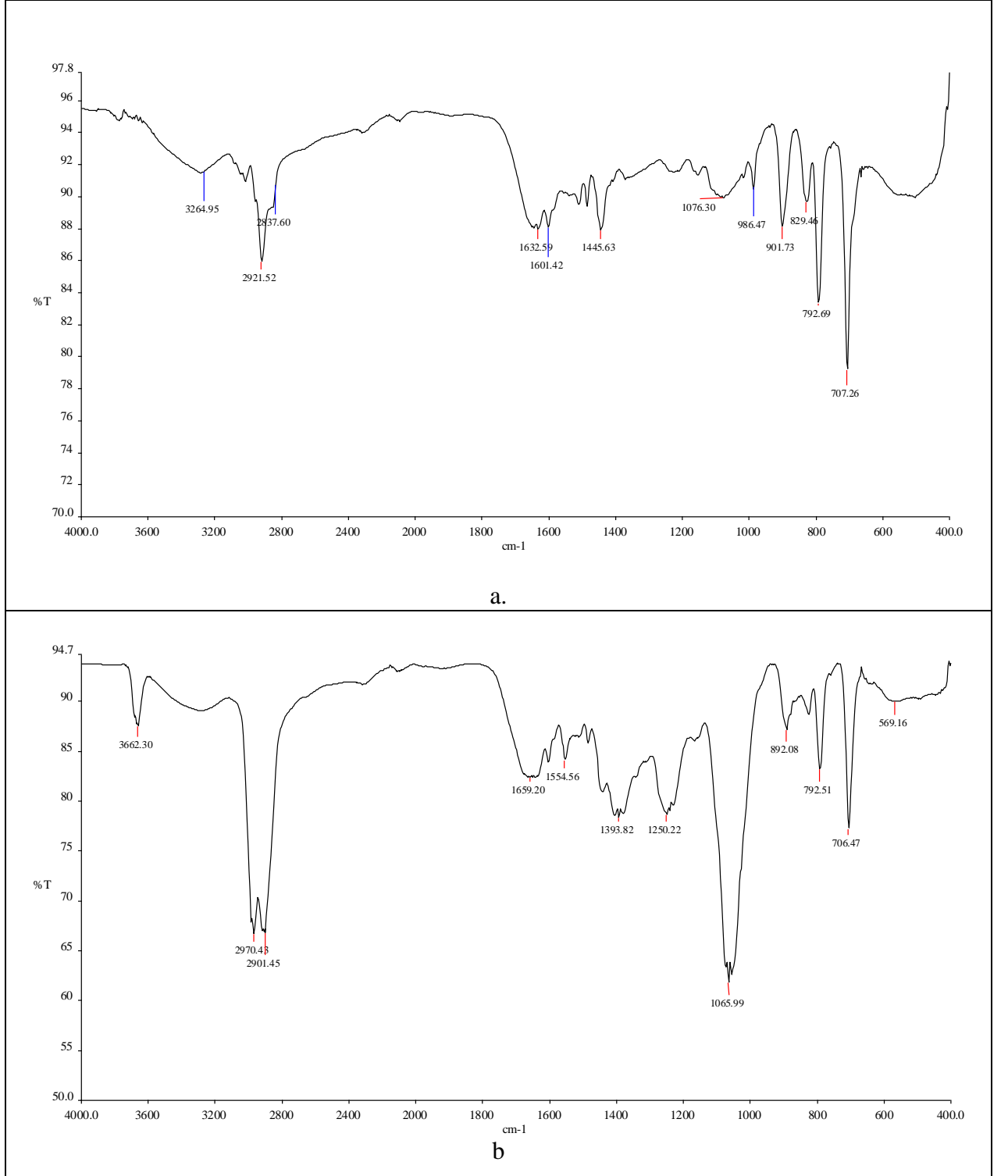
Şekil 4.8. Farklı U(VI) Konsantrasyonlarının *B. mojavensis*'in α -Amilaz Üretimi Üzerine Etkisi

4.5. FT-IR Analizi Ve Yüzey Karakterizasyonu

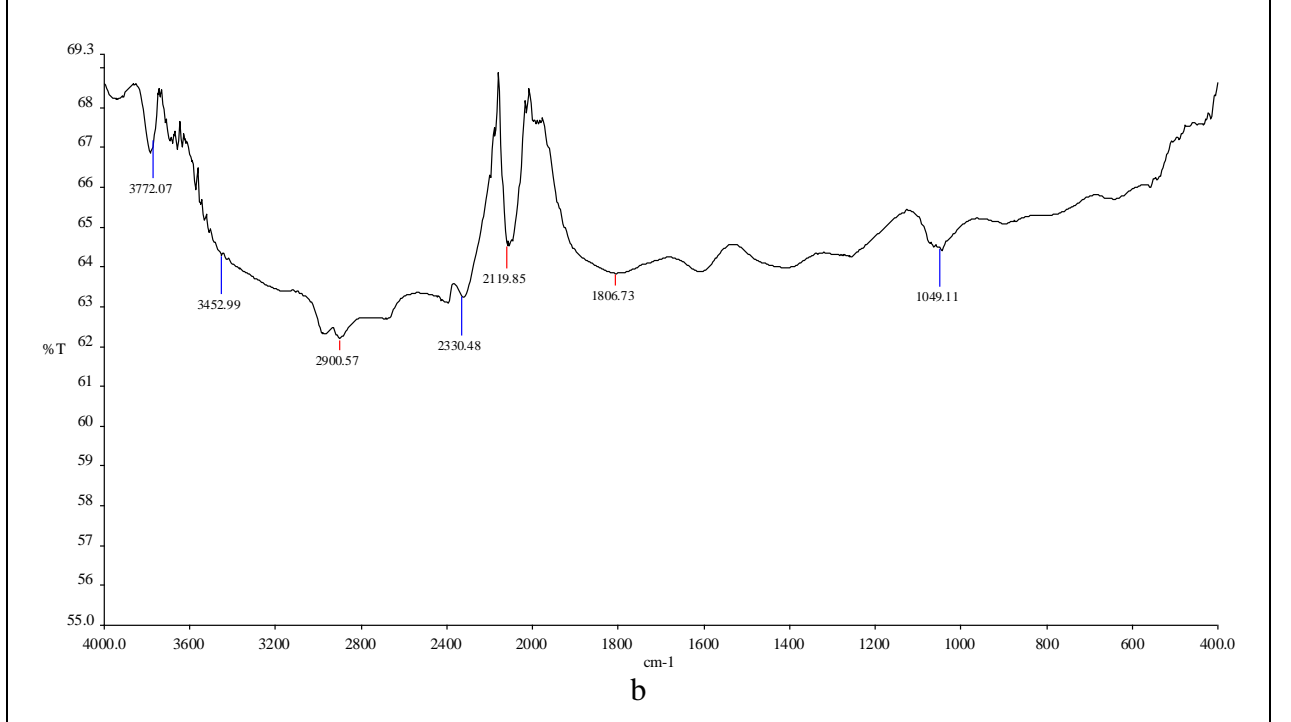
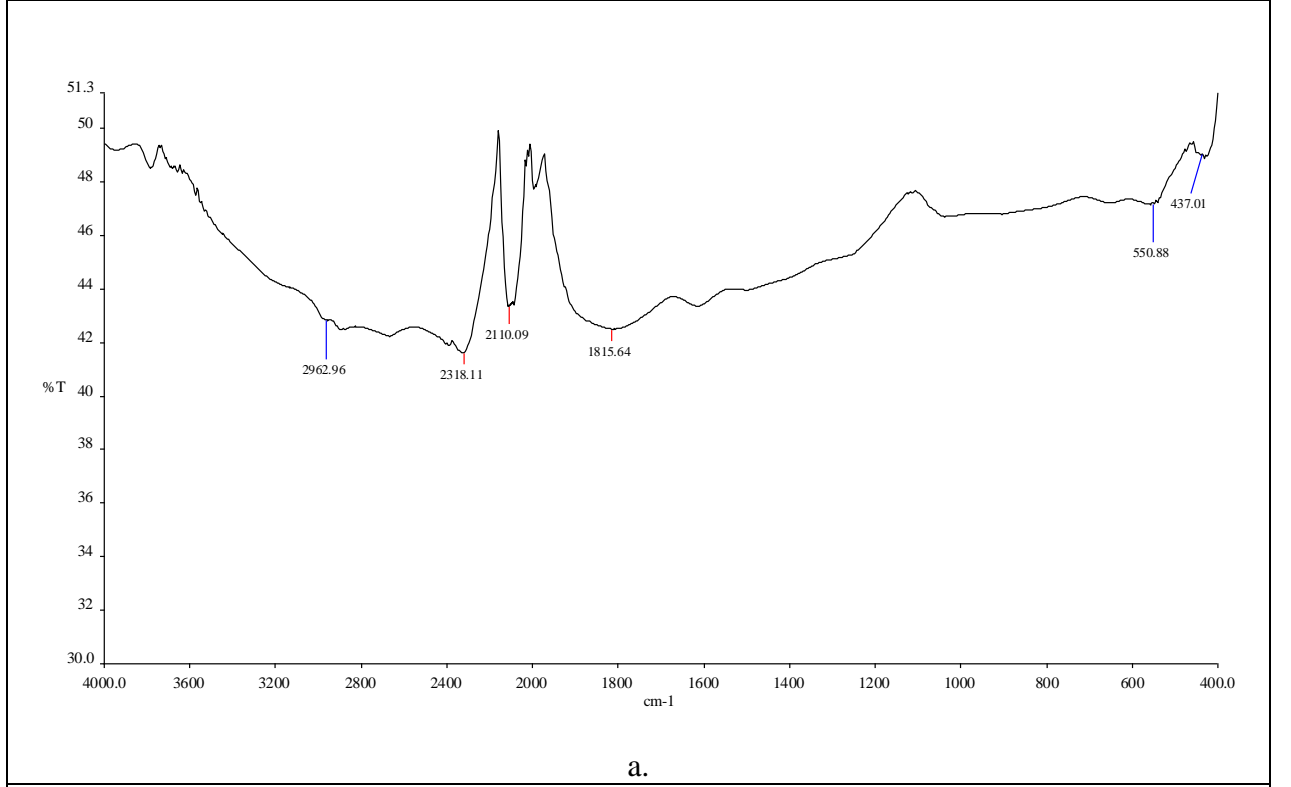
2837 cm^{-1} 'deki pik aromatik halkaya bağlı C-H, 2921 cm^{-1} 'deki pik ise CH_2 bağ titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. 1601, 1632 cm^{-1} 'deki pikler aromatik halka içerisindeki çifte bağ titreşimlerinin sonucudur. 1076 cm^{-1} 'deki pik aromatik halkadan kaynaklanmaktadır. 3642 cm^{-1} 'de gözlenen pikin alkoli asit yada H bağlı bir O-H gerilmesi olduğu ve koordinasyonla pik şiddetinin belirgin bir şekilde arttığı gözlenmiştir. 1554 cm^{-1} 'deki pikin C=C gerilmesi, 1250 cm^{-1} 'deki pikin amin yada amid yapısına dair C-N gerilmesi, 1066 cm^{-1} 'de gözlenen pikin ise alkol, ester,

karboksilik asit yada eter yapısından kaynaklanabilecek bir C-O gerilmesi olabileceği düşünülmektedir.

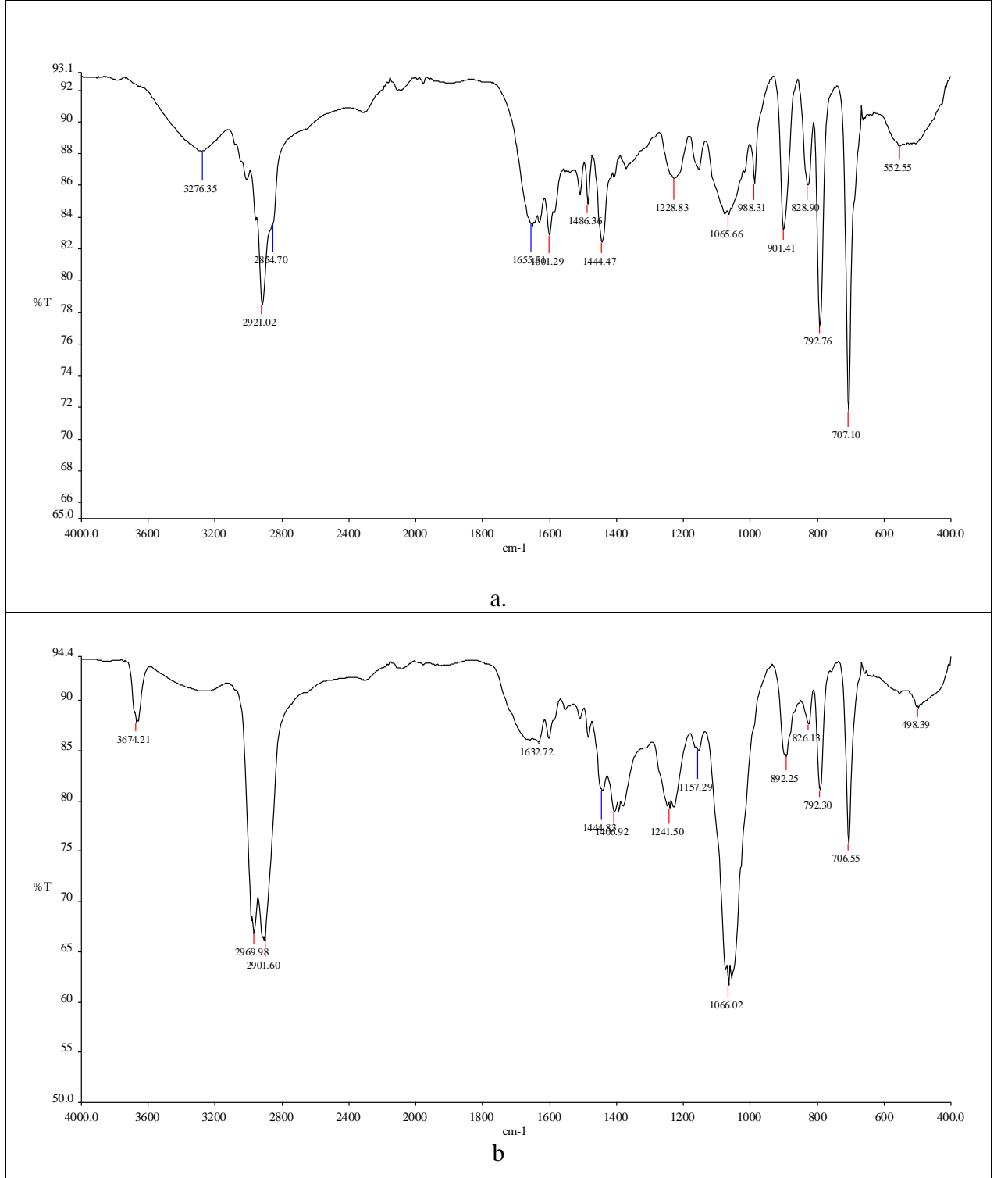
U(VI) adsorpsiyonu sonrasında piklerde belirgin şekilde şiddetlenme gözlenmekle birlikte 1066 cm^{-1} 'deki şiddetli pikin oluşan koordinasyon bağındaki titreşimlerden oluştuğu düşünülmektedir. 3642 cm^{-1} 'de, 1554 cm^{-1} , 1250 cm^{-1} ve 1066 cm^{-1} 'de gözlenen piklerin ise U(VI)'nın yüzeydeki fonksiyonel yapılarla koordinasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. MWCNT üzerine *B. vallismortis* immobilizasyonu sonrası MWCNT'ye ait pikler *B. vallismortis*'a ait piklerden dolayı spektrumda gözükmemektedir (Şekil 4. 10). Şekil 4. 9a'dan farklı olarak Şekil 4. 11a'da 1065 ve 1228 cm^{-1} 'de gözlenen piklerin *Bacillus mojavensis*'in yüzey yapısında olabilecek amin ya da amid yapısına dair C-N gerilmesi, 1066 cm^{-1} 'de gözlenen pikin ise alkol, ester, karboksilik asit ya da eter yapısından kaynaklanabilecek bir C-O gerilmesi olabileceği düşünülmektedir. 3674 cm^{-1} 'de, 1400 cm^{-1} 'de gözlenen piklerin ise U(VI)'nın yüzeydeki fonksiyonel yapılarla koordinasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Koordinasyon sonrası diğer piklerde de yaklaşık 10 cm^{-1} 'lik kaymalar gerçekleşmiştir. Şekil 4. 12a'da 2900 cm^{-1} 'deki duble pikin H bağından kaynaklanan OH gerilmesi, 2930 cm^{-1} 'deki pikin CH alkan yapısından, 2105 cm^{-1} 'deki pikin alkin yapısından, 1609 cm^{-1} 'deki pikin C=C alkin yapısından, 1393 ve 1245 cm^{-1} 'deki piklerin C-N amin/amid yapısında, 1056 cm^{-1} 'de gözlenen pikin ise alkol, ester, karboksilik asit ya da eter yapısından kaynaklanabilecek bir C-O gerilmesi olabileceği düşünülmektedir. Şekil 4. 12a ve b incelendiğinde U(VI) koordinasyonu sonrasında piklerde yaklaşık 10 cm^{-1} 'lik kaymalar gözlenmiştir.



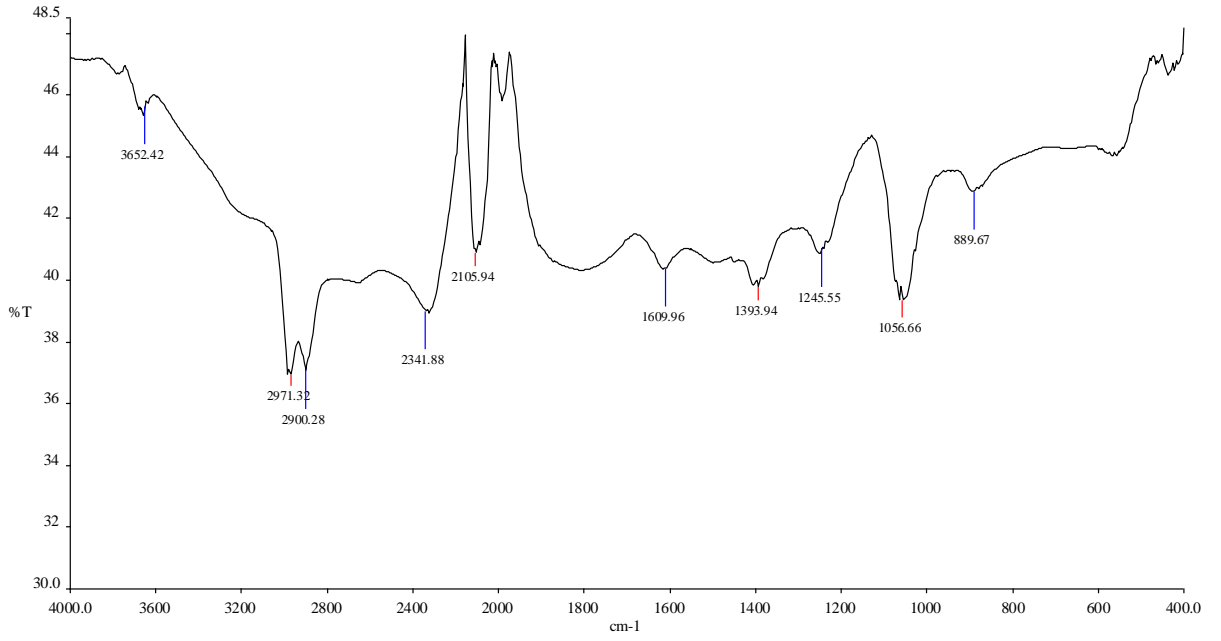
Şekil 4.9. a. Amberlite XAD-4'e tutturulmuş *B. vallismortis* FT-IR spektrumu, b. Amberlite XAD-4' tutturulmuş *B. vallismortis* üzerine biyosorplanmış U(VI) FT-IR spektrumu



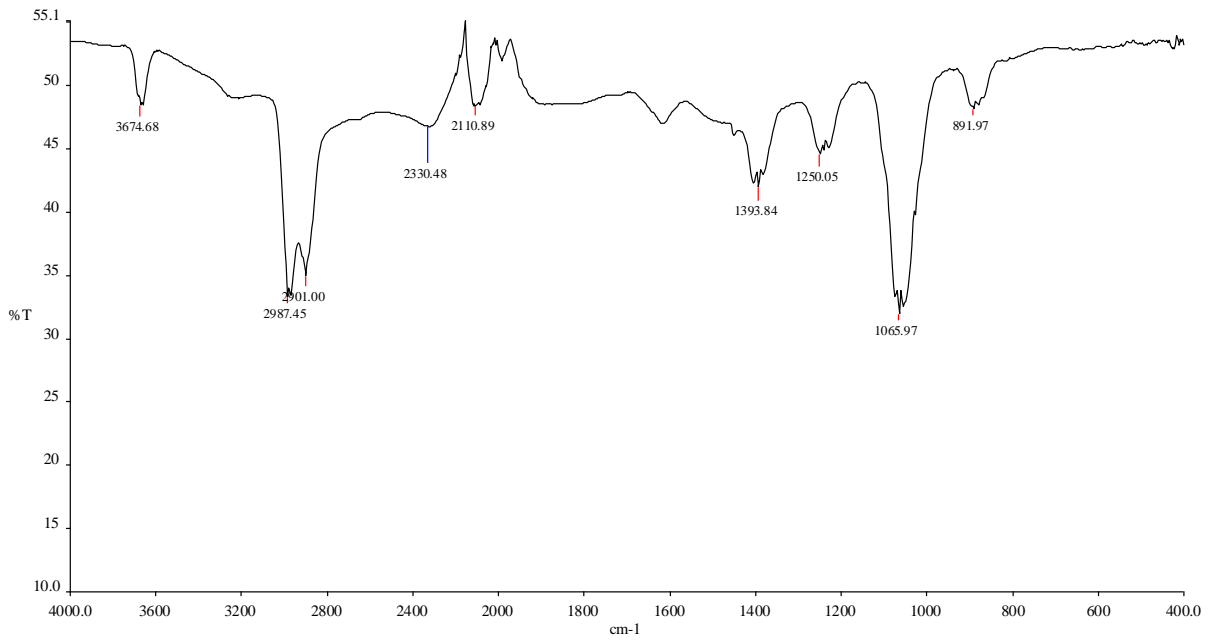
Şekil 4.10. a. MWCNT'ye tutturulmuş *Bacillus vallismortis* FT-IR spektrumu, b. MWCNT'ye tutturulmuş *Bacillus vallismortis* üzerine biyosorplanmış U(VI) FT-IR spektrumu



Şekil 4.11. a. Amberlite XAD-4'e tutturulmuş *Bacillus mojavensis* FT-IR spektrumu, b. Amberlite XAD-4'e tutturulmuş *Bacillus mojavensis* üzerine biyosorplanmış U(VI) FT-IR spektrumu



a.

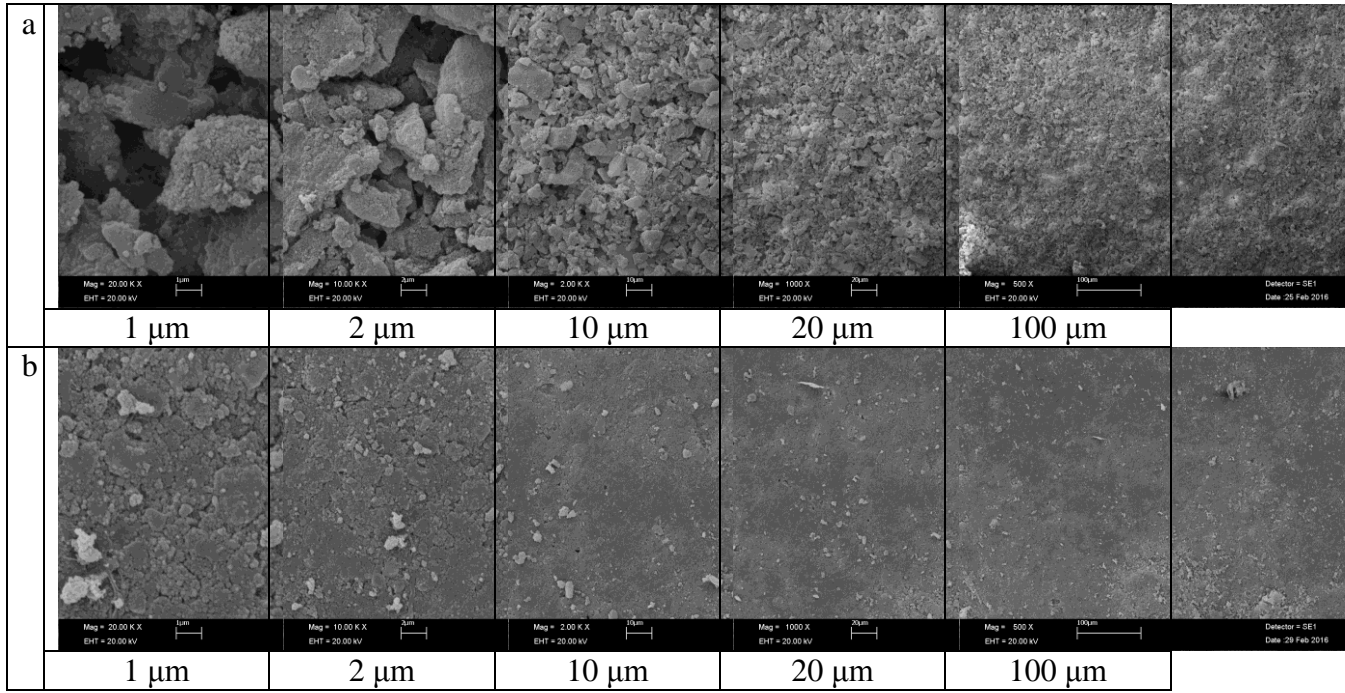


b

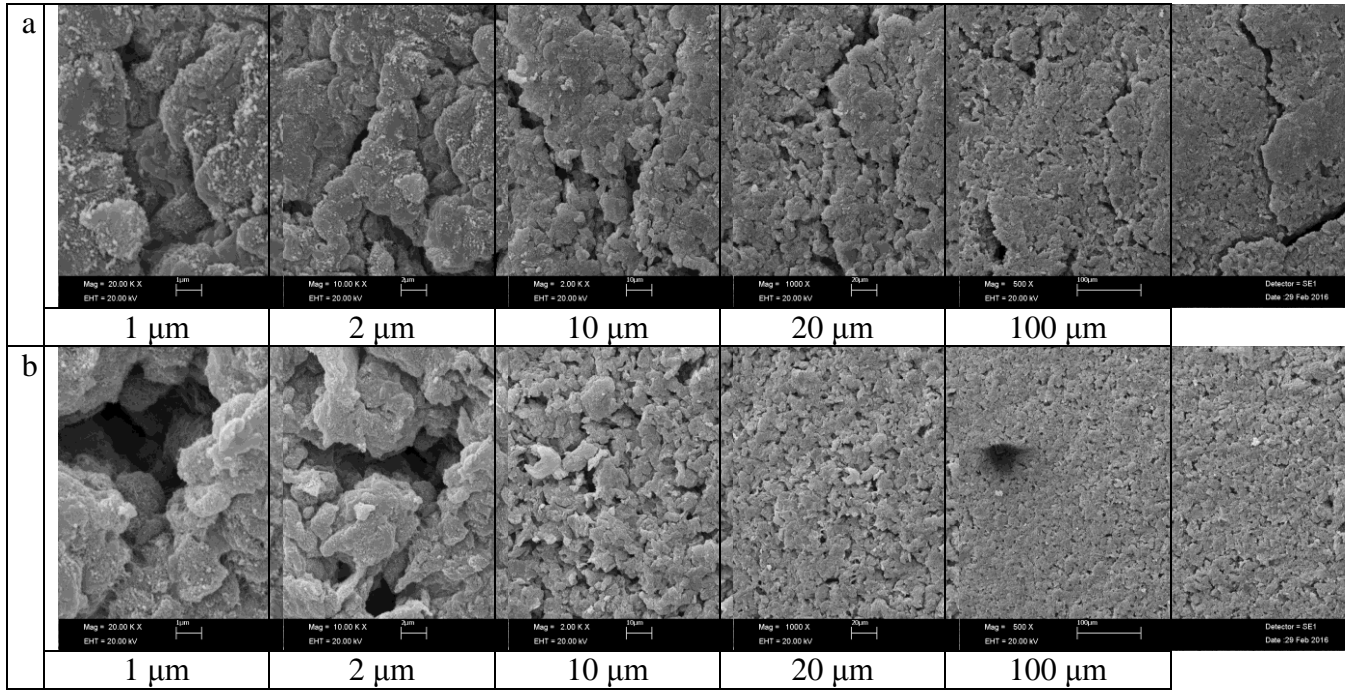
Şekil 4.12. a. MWCNT'ye tutturulmuş *Bacillus mojavensis* FT-IR spektrumu, b. MWCNT'ye tutturulmuş *Bacillus mojavensis* üzerine biyosorplanmış U(VI) FT-IR spektrumu

U(VI) biyosorplanmış ve biyosorplanmamış Amberlite XAD-4 ve MWCNT'ye ayrı ayrı tutturulmuş *Bacillus mojavensis* ve *Bacillus vallismortis*'e ait SEM görüntüleri ile farklı çözünürlüklerde (1, 2, 10, 20, 100 µm) kaydedilerek sonuçlar karşılaştırmalı olarak Şekil 4. 13 - 4. 16'de verilmiştir. Yüzey makroyapısı ile bilgi veren SEM görüntülerinden hazırlanan biosorbentin büyük ölçüde homojen yapıda olduğu

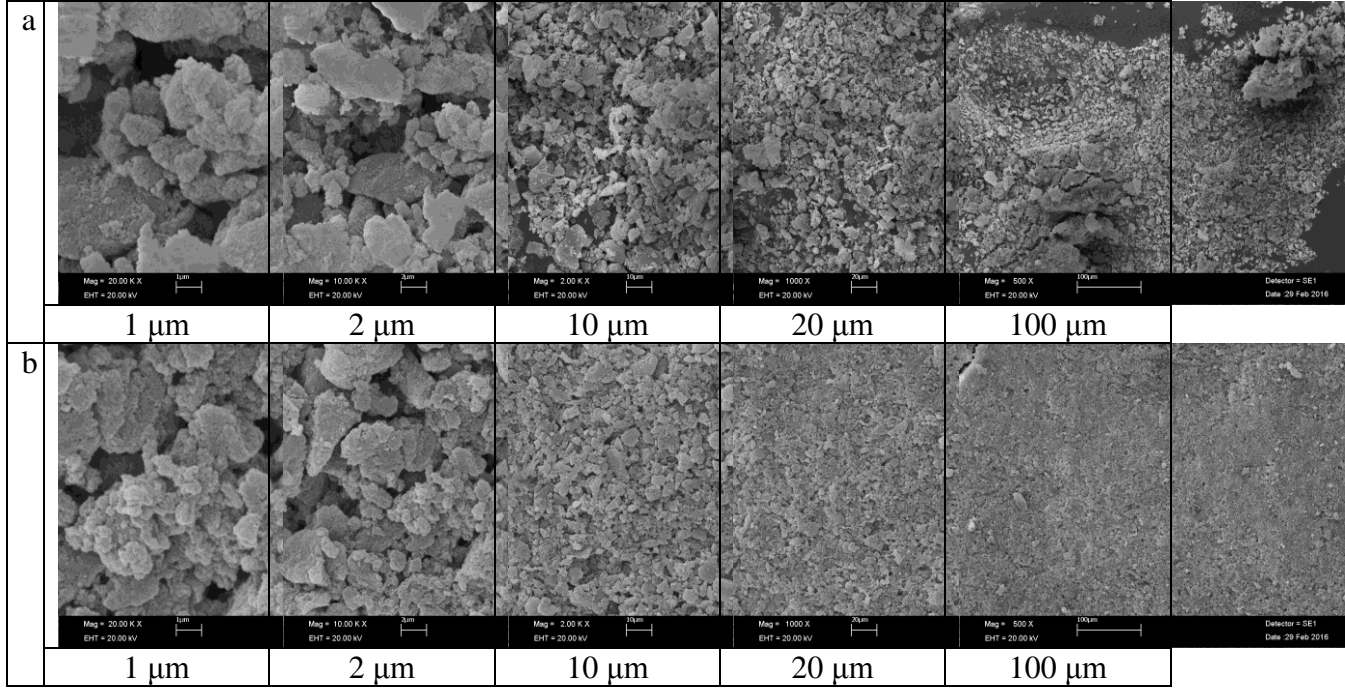
görülmektedir. U(VI) biyosorpsiyonu sonrası beklenildiği gibi yüzey yapısında herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir.



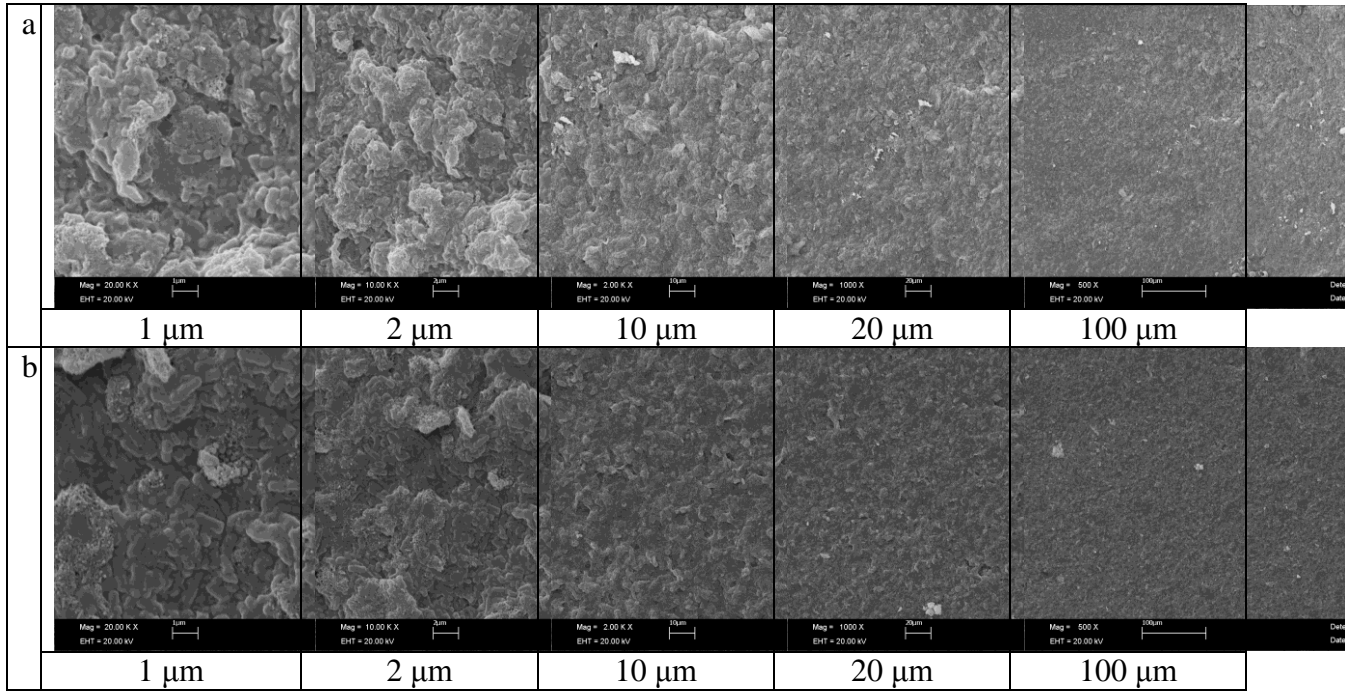
Şekil 4.13. a. Amberlite XAD-4'e tutturulmuş *Bacillus vallismortis* SEM görüntüsü, b. Amberlite XAD-4' tutturulmuş *Bacillus vallismortis* üzerine biyosorplanmış U(VI) SEM görüntüsü



Şekil 4.14. a. MWCNT'ye tutturulmuş *Bacillus vallismortis* SEM görüntüsü, b. MWCNT'ye tutturulmuş *Bacillus vallismortis* üzerine biyosorplanmış U(VI) SEM görüntüsü



Şekil 4.15. a. Amberlite XAD-4'e tutturulmuş *Bacillus mojavensis* SEM görüntüsü, b. Amberlite XAD-4'e tutturulmuş *Bacillus mojavensis* üzerine biyosorplanmış U(VI) SEM görüntüsü



Şekil 4.16. a. MWCNT'ye tutturulmuş *Bacillus mojavensis* SEM görüntüsü, b. MWCNT'ye tutturulmuş *Bacillus mojavensis* üzerine biyosorplanmış U(VI) SEM görüntüsü

4.6. pH'nın U(VI)'nin Gerikazanımı Üzerine Olan Etkisi

Katı faz ekstraksiyon çalışmalarında pH analitlerin geri kazanımı için çalışılması gereken en önemli parametrelerden birisidir. Çünkü metal iyonlarının tutunması biyokütlenin fonksiyonel grupları ile metal iyonları arasındaki iyonik etkileşime

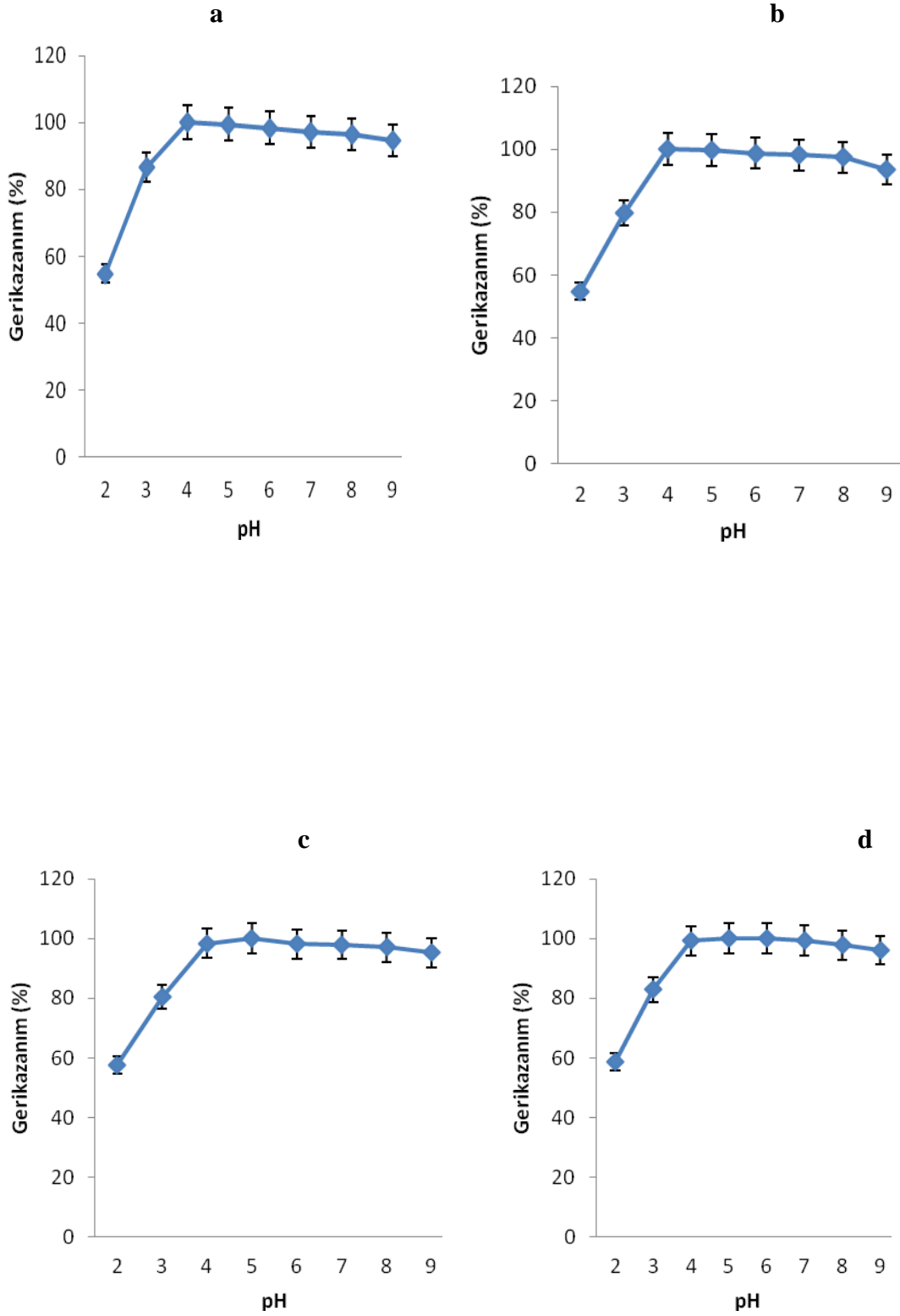
dayanır. Bundan dolayı immobilize biyosorbentlerin pH'nın U(VI)'nin biyosorpsiyonu üzerine olan etkisi belirlemek amacıyla pH 2,0-9,0 aralığın da 1 mL/dk akış hızında test edildi. Farklı katı faz ekstraksiyon kolonları kullanarak U(VI)'nin gerikazanımı üzerine pH'nın etkisi Şekil 4. 17 **a** (*B. vallismortis*+MWCNT), **b** (*B. mojavensis*+MWCNT), **c** (*B. vallismortis*+XAD-4) ve **d** (*B. mojavensis*+XAD-4)'de gösterilmiştir. pH 4,0'dan daha düşük pH değerlerinde biyosorpsiyon verimlerinde kullanılan 4 farklı katı faz ekstraksiyon kolonlarında verimin düştüğü tespit edilmiştir. Optimum pH *B. vallismortis*+MWCNT, *B. mojavensis*+MWCNT, *B. vallismortis*+XAD-4 ve *B. mojavensis*+XAD-4 gibi farklı katı faz ekstraksiyon kolonları için sırasıyla 4,0-5,0, 4,0, 4,0-6,0 ve 4,0-5,0 olarak tespit edilmiştir (Ozdemir ve Kilinc, 2012).

XAD-4 üzerine immobilize edilmiş termofilik *Geobacillus thermoleovorans* kullanarak U(VI)'nin katı faz ekstraksiyonunu çalışmışlardır. Optimum pH'yı 4.0-6.0 olarak belirlemişlerdir. Hafif asidik (4,0-6,0) pH değerlerinde analitlerin biyosorpsiyonu için daha uygun olduğu görülmektedir (Aslan ve ark., 2007).

Elde ettiğimiz sonuçlar bu sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Düşük asidik (4.0<) pH'larda, biyosorbent yüzeyinde bulunan metal ilgisine sahip bağlanma bölgeleri için H⁺ iyonları ile metal iyonları arasındaki yarışmadan dolayı metal biyosorpsiyonunun azalmasına neden olmaktadır (Green-Ruiz ve ark., 2008)

Yüksek çözelti pH'sında, metal iyonları ortamda artan OH⁻ gruplarına bağlanarak çökelmeye neden olur ve böylece biyosorpsiyon veriminde işlemleri zorlaştırabilir (Vijayaraghavan ve Yun, 2008).

pH değerleri 7,0'dan yüksek olduğunda biyosorpsiyon veriminde azalmanın olduğu saptanmıştır. Bundan sonraki çalışmalarda pH 4,0 U(VI)'nin katı faz ekstraksiyonu için kullanılmıştır.



Şekil 4.17. Farklı katı faz ekstraksiyon kolonları kullanarak U(VI)'nin gerikazanımı üzerine pH'nın etkisi
a) *B. vallismortis*+MWCNT, b) *B. mojavensis*+MWCNT, c) *B. vallismortis*+XAD-4 ve d) *B. mojavensis*+XAD-4

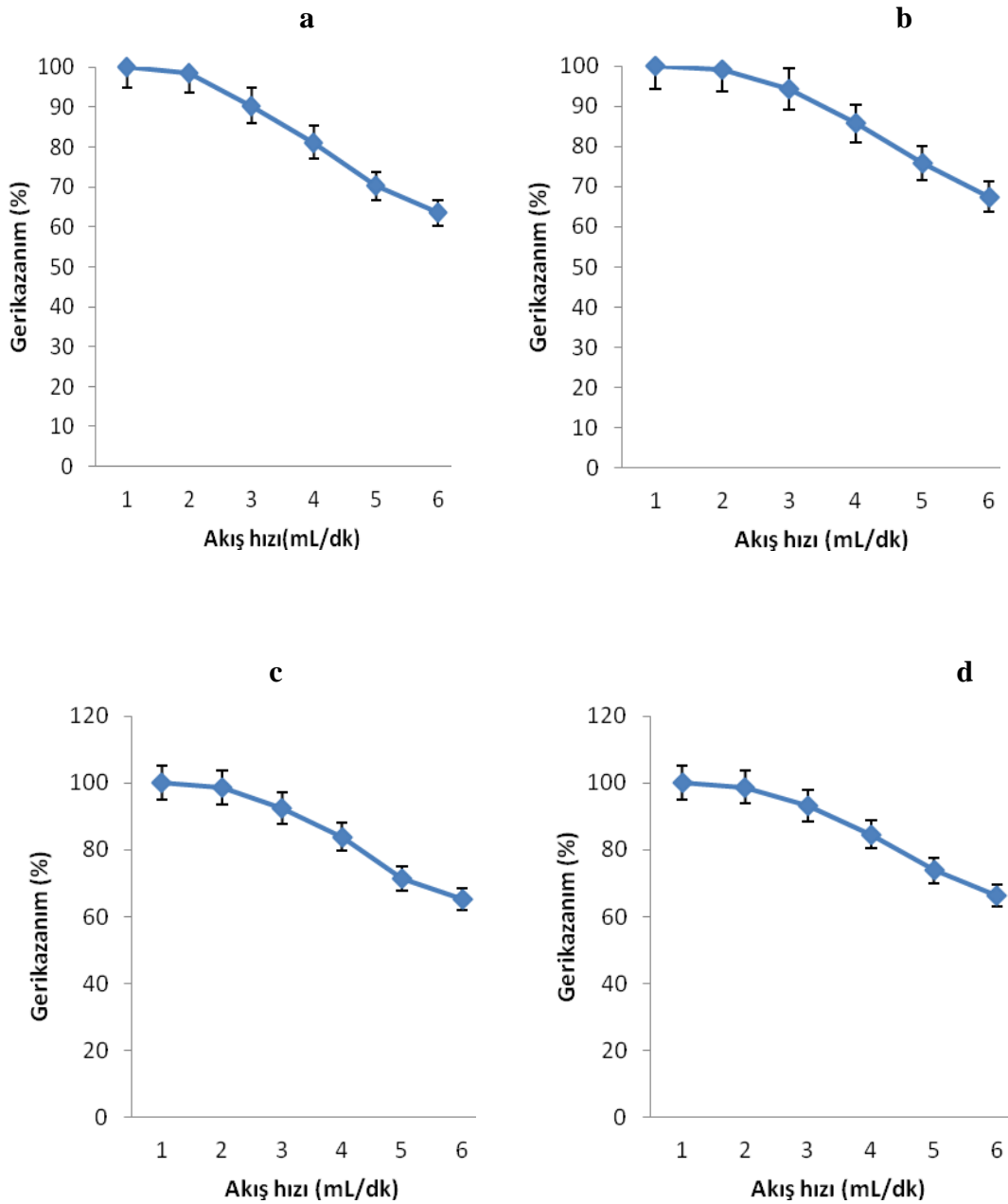
4.7. Akış Hızının U(VI)'nin Gerikazanımı Üzerine Olan Etkisi

Akış hızı bakteri yüzeyine metal iyonlarının bağlamasını ve biyosorpsiyon verimini de etkiler (Ghaedi ve ark. 2007, Suharso ve ark., 2010).

Amberlite XAD-4 ve MWCNT üzerine tutturulmuş farklı biyosorbentlerin U(VI)'nin gerikazanımı üzerine farklı akış hızlarının etkisini tespit etmek için optimum pH'ya ayarlanmış U(VI) çözeltileri Amberlite XAD-4 ve MWCNT üzerine termofilik bakteri tutturulmuş kolonlardan 1-6 mL/dak arasındaki akış hızlarında geçirildi. Deney süresinin fazla uzamaması için çözelti akış hızı 1 mL/dak'dan daha düşük akış hızlarında çalışılmadı.

Şekil 4. 18 a (*B. vallismortis*+MWCNT), b (*B. mojavensis*+MWCNT), c (*B. vallismortis*+XAD-4) ve d (*B. mojavensis*+XAD-4)'de farklı katı faz ekstraksiyon kolonları kullanarak U(VI)'nin gerikazanımı üzerine akış hızının etkisi verilmiştir. Akış hızı 2 mL/dak'dan daha yüksek olduğunda U(VI) gerikazanım veriminin düştüğü görülmektedir. Akış hızı 2 ml/dak'dan 3 mL/dak akış hızına yükseldiğinde *B. vallismortis*+MWCNT, *B. mojavensis*+MWCNT, *B. vallismortis*+XAD-4 ve *B. mojavensis*+XAD-4 katı faz ekstraksiyon kolonları için U(VI) gerikazanım yüzdesi sırasıyla %98,6'dan %90,4'e, %99,2'den %94,3'e, %98,6'dan %90,4'e ve %98,8'den 93,1'e düştüğü saptanmıştır.

Optimum akış hızı tüm katı faz ekstraksiyon kolonları için 2mL/dak olarak bulunmuştur. Akış hızının artmasıyla U(VI) ile biyosorbentlerin yüzeyinde bulunan metal bağlayıcı fonksiyonel gruplar arasında yeterli bağlanma zamanı oluşmadığından verimde düşüşler meydana gelmektedir (Anthemidis ve ark., 2001). Benzer sonuçlar Ozdemir ve ark. (2016) tarafından rapor edilmiştir. Bundan sonraki çalışmalarda 2 mL/dak'lık akış hızı kullanılmıştır.



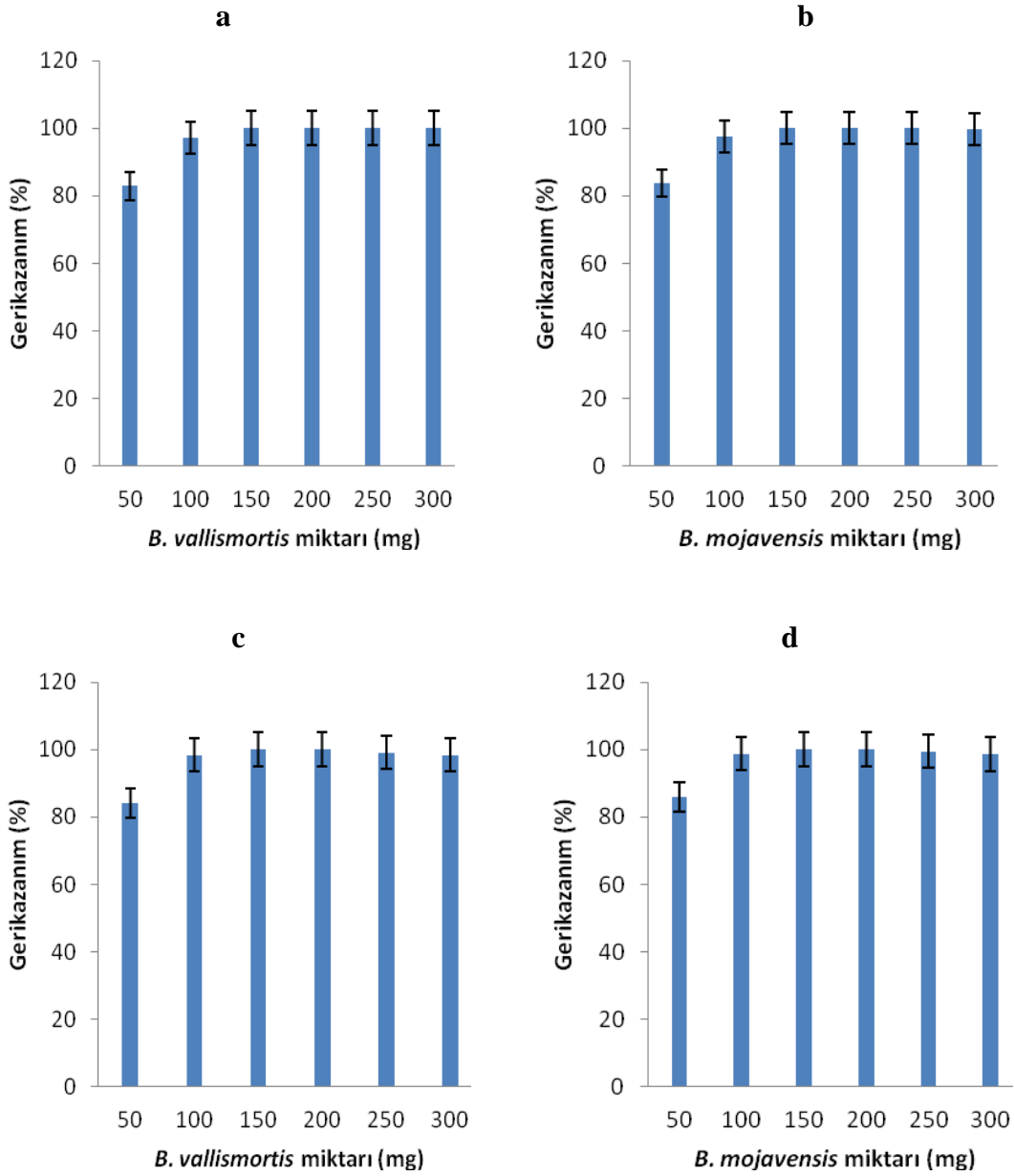
Şekil 4.18. Farklı katı faz ekstraksiyon kolonları kullanarak U(VI)'nin gerikazanımı üzerine akış hızının etkisi a) *B. vallismortis*+MWCNT, b) *B. mojavensis*+MWCNT, c) *B. vallismortis*+XAD-4 ve d) *B. mojavensis*+XAD-4

4.8. Biyosorbent Miktarının U(VI)'nin Gerikazanımı Üzerine Olan Etkisi

Farklı biyosorbent miktarları kullanarak oluşturulan katı faz ekstraksiyon kolonlarının U(VI)'nin gerikazanımı üzerine olan etkisi Şekil 4.19. a (*B. vallismortis*+MWCNT), b (*B. mojavensis*+MWCNT), c (*B. vallismortis*+XAD-4) ve d (*B. mojavensis*+XAD-4) verilmiştir. Biyosorbent miktarı 50 ile 300 mg arasında değişmektedir. Elde edilen verilere göre, U(VI) gerikazanım verimi biyosorbent miktarının artmasına bağlı olarak belli bir miktara kadar arttığı tespit edilmiştir. Benzer

sonuçlar Kılınç ve ark., (2013a) ve Kılınç ve ark., (2013b) tarafından belirtilmiştir. Biyosorbent miktarının artışına bağlı olarak biyosorbe olan metal miktarı da artar. Bunun nedeni artan biyosorbent miktarına bağlı olarak metal bağlanma bölge sayılarının artmasıdır. (Burnett ve ark., 2006; Han ve ark. 2006).

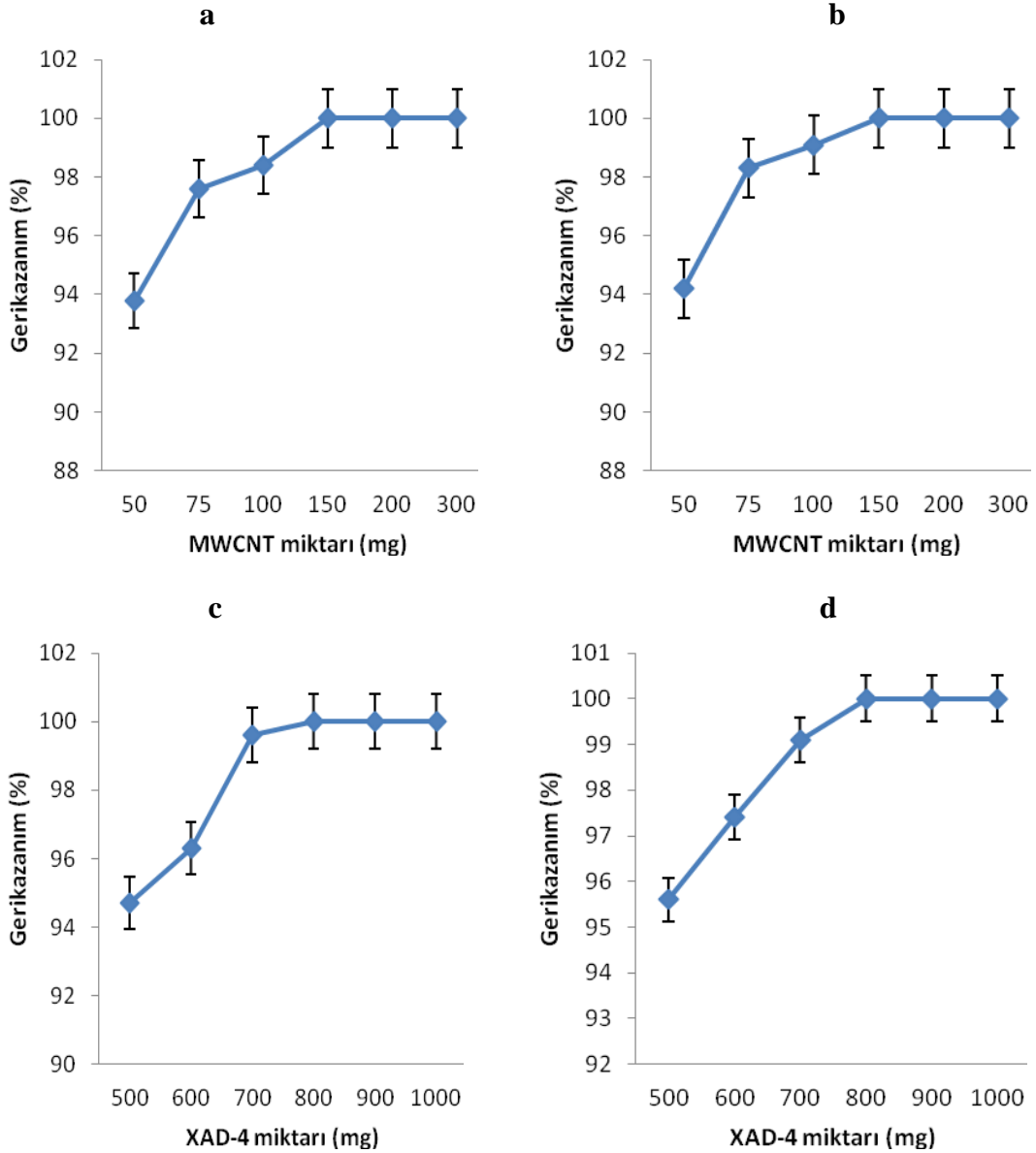
Biyosorbent miktarı 50 mg'dan 150 mg'a kadar arttığında U(VI) gerikazanım verimi, *B. vallismortis*+MWCNT, *B. mojavensis*+MWCNT, *B. vallismortis*+XAD-4 ve *B. mojavensis*+XAD-4 için verimin %100 olduğu saptanmıştır. Bu nedenle U(VI) için kantitatif gerikazanım olduğu ve 150 mg'lık biyosorbent miktarı en uygun değer olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.19. Farklı biyosorbent miktarları kullanarak oluşturulan katı faz ekstraksiyon kolonlarının U(VI)'nin gerikazanımını üzerine olan etkisi a) *B. vallismortis*+MWCNT, b) *B. mojavensis*+MWCNT, c) *B. vallismortis*+XAD-4 ve d) *B. mojavensis*+XAD-4

4.9. Destek matriks miktarının U(VI)'nin Gerikazanımı Üzerine Olan Etkisi

Katı faz ekstraksiyon çalışmalarında metal iyonlarının kantitatif gerikazanımı için destek matriks miktarı çok önemli bir parametredir (Bezerra ve ark., 2007). U(VI)'nin gerikazanımında en uygun destek matriksini belirlemek için XAD-4 500-1000 mg ve MWCNT 50-300 mg aralarında çalışıldı. Farklı destek matriks miktarları kullanarak oluşturulan katı faz ekstraksiyon kolonlarının U(VI)'nin gerikazanımı üzerine olan etkisi Şekil 4. 20. a, b, c ve d'de verilmiştir. Deneysel sonuçlar gösterdi ki U(VI)'nin gerikazanımı XAD-4 ve MWCNT miktarı sırasıyla 800 ve 150 mg'a kadar artış göstermiştir. Artan XAD-4 ve MWCNT miktarlarına rağmen U(VI)'nin kantitatif gerikazanımında bir değişme meydana gelmemiştir. Bundan dolayı sonraki çalışmalarda sırasıyla 800 ve 150 mg XAD-4 ve MWCNT destek matriksi olarak kullanılmıştır.



Şekil 4.20. Farklı destek matris miktarları kullanarak oluşturulan katı faz ekstraksiyon kolonlarının U(VI)'nin gerikazanımı üzerine olan etkisi a) *B. vallismortis*+MWCNT, b) *B. mojavensis*+MWCNT, c) *B. vallismortis*+XAD-4 ve d) *B. mojavensis*+XAD-4

4.10. Elüent Cinsi, Derişimi ve Hacminin U(VI)'nin Gerikazanımı Üzerine Olan Etkisi

Katı faz ekstraksiyon çalışmalarında metal iyonlarının biyosorbent yüzeyinden geri alınmasında kullanılan eluentin türü, hacmi ve konsantrasyonu bir diğer önemli faktördür. Çünkü geri alma verimini ve biyosorbentin yüzeyindeki metal bağlanma ilgisine sahip fonksiyonel grupların yapısını etkileyebilir. Bundan dolayı eluent konsantrasyonunun ve hacminin düşük olması oldukça önemlidir (Özdemir ve ark., 2013). Bu çalışmada HCl ve HNO₃ eluent olarak kullanılmıştır. Kolonuna yerleştirilen 4 farklı immobilize biyosorbente bağlanan U(VI)'u geri almak için farklı hacimlerde ve

konsantrasyonlarda HCl ve HNO₃'in etkileri incelenmiştir. Sonuçlar Tablo 4. 3., 4. 4., 4. 5. ve 4. 6.'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre çalışılan tüm katı faz ekstraksiyon kolonları için 5 mL 1M HCl çözeltisinin en uygun olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.3. MWCNT Üzerine tutturuluş *B. vallismortis* kullanarak U(VI) gerikazanımı üzerine Eluent tipi, hacmi ve konsantrasyonunun etkisi

Eluent Tipi	Hacim (mL)	Konsantrasyon mol/L	Gerikazanım
			MWCNT+B. vallismortis
HCl	3	0,5	88,2±0,6
	5	0,5	93,8±0,7
	3	1	93,6±1,4
	5	1	100±0,5
HNO₃	3	0,5	85,2±1,1
	5	0,5	91,9±0,8
	3	1	92,6±1,3
	5	1	95,6±0,9

Tablo 4.4. MWCNT Üzerine tutturuluş *B. mojavensis* kullanarak U(VI) gerikazanımı üzerine Eluent tipi, hacmi ve konsantrasyonunun etkisi

Eluent Tipi	Hacim (mL)	Konsantrasyon mol/L	Gerikazanım
			MWCNT+B. mojavensis
HCl	3	0,5	88,9±1,1
	5	0,5	94,2±0,8
	3	1	93,9±1,2
	5	1	100±0,9
HNO₃	3	0,5	85,9±0,6
	5	0,5	92,8±0,7
	3	1	93,2±0,9
	5	1	96,1±1,3

Tablo 4.5. XAD-4 Üzerine tutturuluş *B. vallismortis* kullanarak U(VI) gerikazanımı üzerine Eluent tipi, hacmi ve konsantrasyonunun etkisi

Eluent Tipi	Hacim (mL)	Konsantrasyon mol/L	Gerikazanım
			<i>XAD-4+B. vallismortis</i>
HCl	3	0,5	90,5±0,9
	5	0,5	95,6±1,2
	3	1	94,7±0,8
	5	1	99,9±1,2
HNO₃	3	0,5	85,9±0,9
	5	0,5	92,8±0,7
	3	1	93,7±1,3
	5	1	96,2±0,8

Tablo 4.6. XAD-4 Üzerine tutturuluş *B. mojavensis* kullanarak U(VI) gerikazanımı üzerine Eluent tipi, hacmi ve konsantrasyonunun etkisi

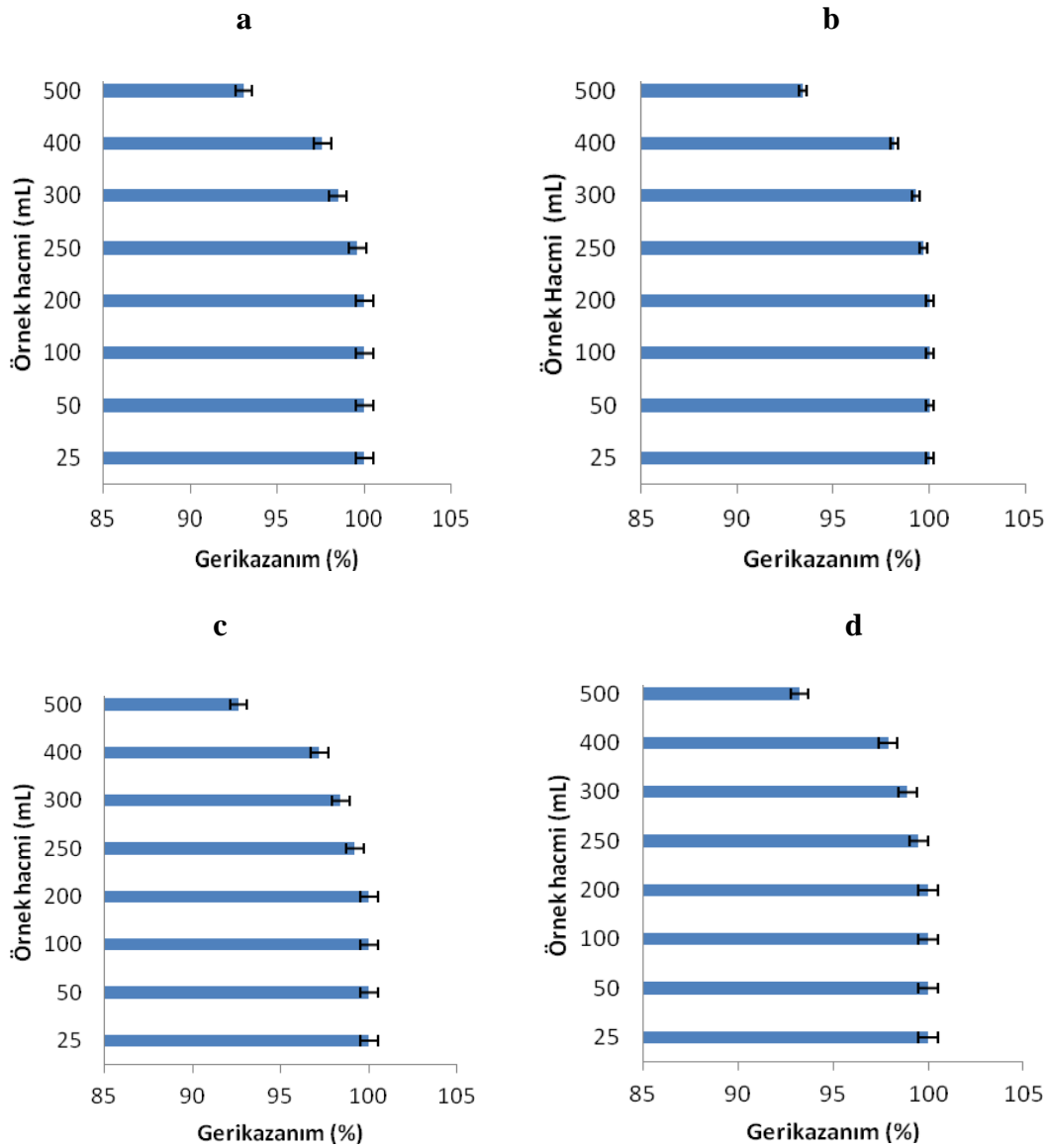
Eluent Tipi	Hacim (mL)	Konsantrasyon mol/L	Gerikazanım
			<i>MWCNT+B. mojavensis</i>
HCl	3	0,5	91,2±0,9
	5	0,5	96,8±0,8
	3	1	95,9±1,1
	5	1	100,1±0,9
HNO₃	3	0,5	86,4±0,5
	5	0,5	94,3±0,7
	3	1	94,1±0,6
	5	1	96,9±0,4

4.11. Örnek Hacminin U(VI)'nin Gerikazanımı Üzerine Olan Etkisi

Nehir suyu, içme suyu ve cevher örnekleri gibi gerçek numuneler eser miktarda metal iyonları içerirler. Bundan dolayı bu eser miktarları belirleyebilmek için uygulanabilecek örnek hacmini bilmek büyük önem arz etmektedir (Özdemir ve Kılınç, 2012).

Yüksek önderiştirme faktörü elde etmek için U(VI) ekstraksiyonu üzerine örnek hacminin etkisi 0,1, 0,2, 0,4, 0,8, 1,0, 1,2, 1,6 ve 2 µg/mL U(VI) içeren 25, 50, 100, 200,

250, 300, 400 ve 500 mL hacimdeki çözeltiler en uygun katı faz ekstraksiyon koşullarında 4 farklı kolondan geçirilmiştir. Farklı katı faz ekstraksiyon kolonları kullanarak U(VI)'nın gerikazanımı üzerine örnek hacminin etkisi Şekil 4. 21. a, b, c ve d'de sunulmuştur. 400 mL örnek çözeltisine kadar U(VI) yüksek oranda geri kazanılabileceği bulunmuştur. Daha fazla örnek hacimlerinde U(VI) geri kazanımının düşmektedir. En uygun elüsyon hacmi 5 mL olarak belirlendiğinden U(VI)'nın önderiştirme faktörleri 80 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4. 21. Farklı katı faz ekstraksiyon kolonları kullanarak U(VI)'nın gerikazanımı üzerine örnek hacminin etkisi a) *B. vallismortis*+MWCNT, b) *B. mojavensis*+MWCNT, c) *B. vallismortis*+XAD-4 ve d) *B. mojavensis*+XAD-4

4.12. Yabancı İyonların U(VI)'nin Gerikazanımı Üzerine Olan Etkisi

Geliştirilen yöntemlerin seçiciliğini belirlemek amacıyla, çözelti ortamındaki U(VI)'larına yabancı iyonların etkisi araştırılmıştır. Doğal numunelerde sadece test edilen metal iyonları bulunmamaktadır. Bunlara ilaveten yabancı iyonlarda bulunmaktadır. Özellikle su numunelerinde bulunan ve matriks etkisi yapan bu iyonlar gerikazanım verimine etki etmektedir. U(VI) çözeltisine farklı konsantrasyonlardaki diğer iyonlar (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} , Fe^{+2} , Cd^{+2} , Co^{+2} , Cu^{+2} , Ni^{+2} , Zn^{+2} ve Al^{+3}) eklendikten sonra katı faz ekstraksiyon yöntemi uygulandı. Test edilen tüm yabancı iyonları için belirtilen derişimlerde kantitatif gerikazanım değerleri elde edilmiştir (Tablo 4. 7., 4. 8., 4. 9., ve 4. 10.).

Tablo 4.7. MWCNT Üzerine tutturuluş *B. vallismortis*'in Yabancı iyonların U(VI) Gerikazanımı üzerine etkisi

Yabancı İyonlar	Yabancı iyon/U(VI) oranı	Gerikazanım^a (%)
		MWCNT+ <i>B. vallismortis</i>
Na⁺	5,000	97,4±0,7
K⁺	5,000	97,6±0,4
Ca⁺²	200	99,8±0,8
Mg⁺²	100	98,1±0,9
Fe⁺²	100	95,7±0,6
Al⁺³	25	96,4±1,3
Cd⁺²	5	97,9±1,1
Co⁺²	5	98,1±0,8
Cu⁺²	5	97,8±0,9
Ni⁺²	5	98,3±0,7
Zn⁺²	5	98,2±1,2

^aU(VI) konsantrasyonu 100 µg L⁻¹

Tablo 4. 8. MWCNT Üzerine tutturuluş *B. mojavensis*'in Yabancı iyonların U(VI) Gerikazanımı üzerine etkisi

Yabancı İyonlar	Yabancı iyon/U(VI) oranı	Gerikazanım^a (%)
		MWCNT+ <i>B. mojavensis</i>
Na ⁺	5,000	97,9±0,5
K ⁺	5,000	98,1±0,7
Ca ⁺²	200	99,4±1,3
Mg ⁺²	100	98,2±0,8
Fe ⁺²	100	96,4±0,5
Al ⁺³	25	97,2±1,2
Cd ⁺²	5	98,6±1,3
Co ⁺²	5	98,3±0,7
Cu ⁺²	5	97,8±0,6
Ni ⁺²	5	98,8±0,9
Zn ⁺²	5	98,4±1,1

^aU(VI) konsantrasyonu 100 µg L⁻¹

Tablo 4. 9. XAD-4 Üzerine tutturuluş *B. vallismortis*'in Yabancı iyonların U(VI) Gerikazanımı üzerine etkisi

Yabancı İyonlar	Yabancı iyon/U(VI) oranı	Gerikazanım^a (%)
		XAD-4+ <i>B. vallismortis</i>
Na⁺	5,000	97,8±0,9
K⁺	5,000	98,4±0,5
Ca⁺²	200	100,1±1,2
Mg⁺²	100	98,5±0,8
Fe⁺²	100	96,9±1,4
Al⁺³	25	97,6±1,2
Cd⁺²	5	98,6±0,7
Co⁺²	5	98,3±0,6
Cu⁺²	5	98,5±1,2
Ni⁺²	5	99,1±1,5
Zn⁺²	5	98,7±1,1

^aU(VI) konsantrasyonu 100 µg L⁻¹

Tablo 4. 10. XAD-4 Üzerine tutturuluş *B. movajensis*'in Yabancı iyonların U(VI) Gerikazanımı üzerine etkisi

Yabancı İyonlar	Yabancı iyon/U(VI) oranı	Gerikazanım^a (%)
		XAD-4+ <i>B. movajensis</i>
Na⁺	5,000	98,3±0,8
K⁺	5,000	98,6±0,7
Ca⁺²	200	100,2±0,9
Mg⁺²	100	98,9±0,6
Fe⁺²	100	97,9±1,3
Al⁺³	25	98,8±0,5
Cd⁺²	5	99,1±0,9
Co⁺²	5	99,2±1,1
Cu⁺²	5	98,9±1,3
Ni⁺²	5	99,7±1,5
Zn⁺²	5	98,9±0,6

^aU(VI) konsantrasyonu 100 µg L⁻¹

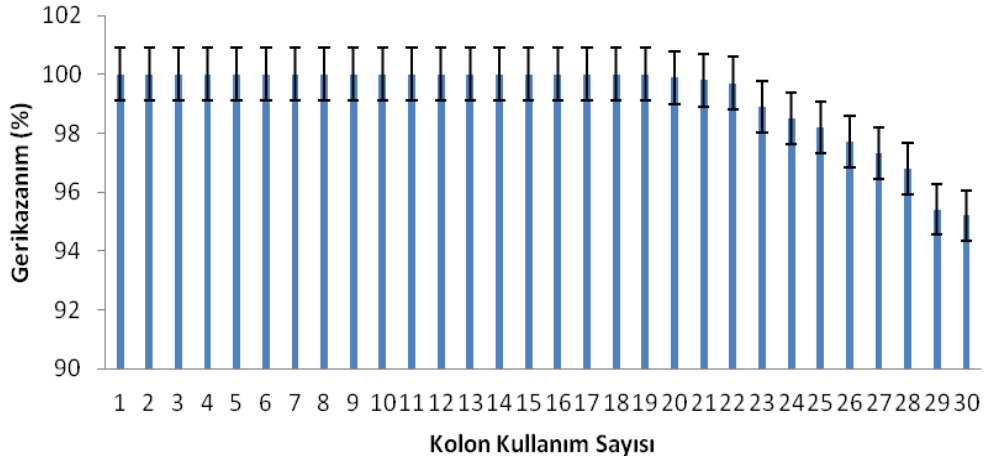
4.13. Kolon Tekrar Kullanımının U(VI)'nin Gerikazanımı Üzerine Olan Etkisi

Katı faz ekstraksiyon çalışmalarında immobilize biyosorbentin tekrar kullanılabilirliği işlem maliyeti, biyoteknolojik ve analitik açıdan en önemli faktörlerdendir. Bundan dolayı kullan kullanımın tekrar kullanılabilirliği katı faz ekstraksiyon çalışmalarında test edilmelidir (Özdemir ve ark., 2017).

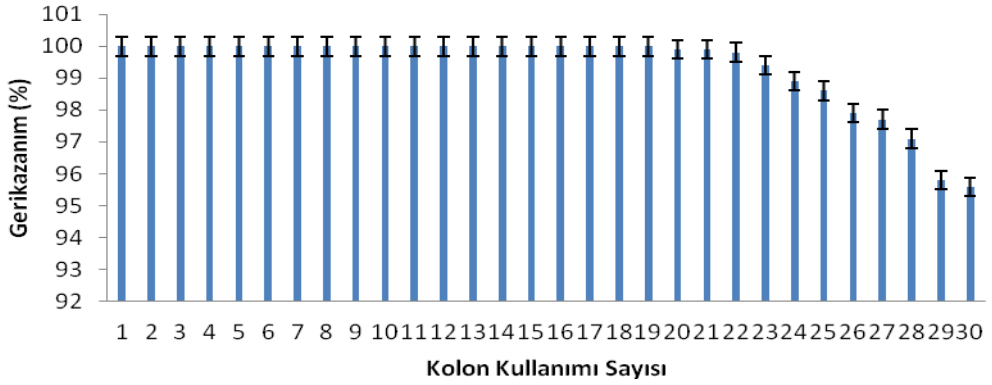
Bunun için U(VI) çözeltisi belirlenen optimum şartlarda 4 farklı katı faz ekstraksiyon kolonlarından 30'ar defa geçirildi. Farklı katı faz ekstraksiyon kolonları kullanarak U(VI)'nin gerikazanımı üzerine kolon kullanımının etkisi Şekil 4. 12. a, b, c

ve d'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre çalışılan tüm kolonların 30 defa kullanıldığında U(VI)'nın kantitatif gerikazanım veriminin %95'den daha yüksek olduğu saptanmıştır.

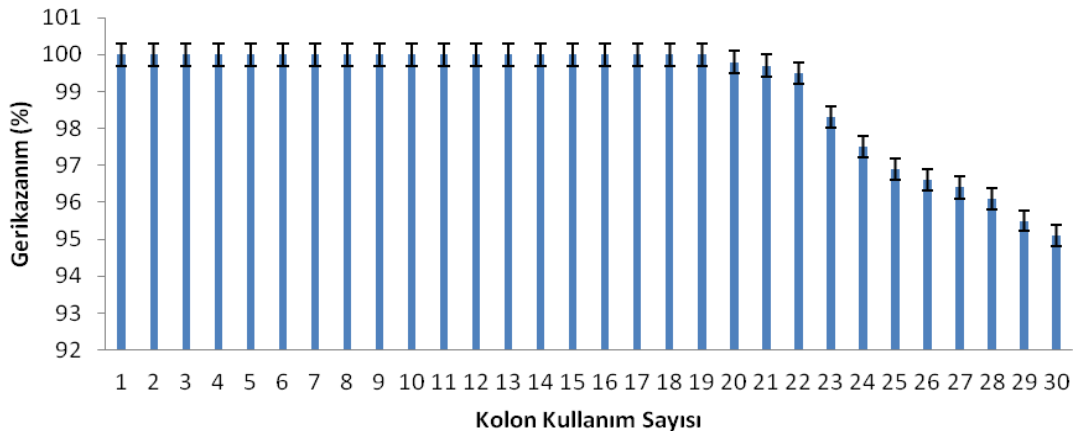
a

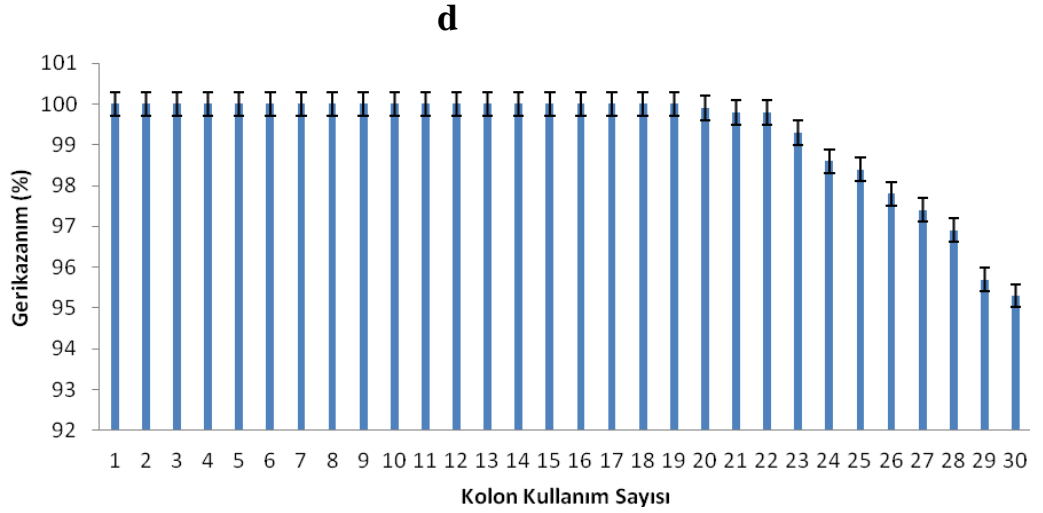


b



c





Şekil 4.22. Farklı katı faz ekstraksiyon kolonları kullanarak U(VI)'nin gerikazanımı üzerine kolon kullanımının etkisi a) *B. vallismortis*+MWCNT, b) *B. mojavensis*+MWCNT, c) *B. vallismortis*+XAD-4 ve d) *B. mojavensis*+XAD-4

4.14. Biyosorpsiyon Kapasitesi

İmmobilize olmuş biyosorbentlerin biyosorpsiyon kapasitesi belirlemek metal iyonlarını kantitatif olarak gerikazanmak için önemli bir parametredir (Özdemir ve ark., 2010). Bunun için optimum koşullarda 20 mg immobilize biyosorbentler 100 mL 10 mg/L U(VI) çözeltisi ile 120 rpm'de 120 dakika karıştırılmıştır. Daha sonra süspansiyon 7000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapılarak süpernatantda geri kalan U(VI) miktarı belirlenerek biyosorpsiyon kapasiteleri tespit edilmiştir. Biyosorpsiyon kapasiteleri *B. vallismortis*+MWCNT için 23,6 mg/mg; *B. mojavensis*+MWCNT için 25,8 mg/g; *B. vallismortis*+XAD-4 için 24,9 mg/g; ve *B. mojavensis*+XAD-4 için 26,3 mg/g olarak bulunmuştur.

4.15. U(VI) Zenginleştirilmesi Ve Geliştirilen Katı Faz Ekstraksiyon Metodlarının Analitiksel Özellikleri

Bu çalışmada 4 farklı katı faz ekstraksiyon kolonu kullanarak U(VI) zenginleştirilmesi çalışılmıştır. Örnek hacmi 400 mL ve son elusyon hacmi de 5 mL olduğu için tüm test edilen katı faz ekstraksiyon kolonları için zenginleştirme faktörü 80 olarak bulunmuştur. Tablo 4. 11, 4.12, 4. 13, ve 4. 14'de *B. vallismortis*+MWCNT, *B. mojavensis*+MWCNT, *B. vallismortis*+XAD-4 ve *B. mojavensis*+XAD-4 tutturulmuş katı faz ekstraksiyon kolonları için LOD değerleri sırasıyla 0,26, 0,29, 0,27 ve 0,20 ng mL⁻¹ olarak belirlenmişken, LOQ değerleri sırasıyla 0,86, 0,99, 0,91 ve 0,66 olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.11. MWCNT üzerine tutturulmuş *B. vallismortis* kullanarak U(VI) zenginleştirilmesi ve geliştirilen katı faz ekstraksiyonu metodunun analitiksel özellikleri

Parametre	
Lineer aralık, ng mL ⁻¹	1,25-18,75
R ²	0,9949
LOD, ng mL ⁻¹	0,26
LOQ, ng mL ⁻¹	0,86
Zenginleştirme faktörü	80

Tablo 4.12. MWCNT üzerine tutturulmuş *B. mojavensis* kullanarak U(VI) zenginleştirilmesi ve geliştirilen katı faz ekstraksiyonu metodunun analitiksel özellikleri

Parametre	
Lineer aralık, ng mL ⁻¹	1,25-18,75
R ²	0,9932
LOD, ng mL ⁻¹	0,29
LOQ, ng mL ⁻¹	0,99
Zenginleştirme faktörü	80

Tablo 4.13. XAD-4 üzerine tutturulmuş *B. vallismortis* kullanarak U(VI) zenginleştirilmesi ve geliştirilen katı faz ekstraksiyonu metodunun analitiksel özellikleri

Parametre	
Lineer aralık, ng mL ⁻¹	1,25-18,75
R ²	0,9905
LOD, ng mL ⁻¹	0,27
LOQ, ng mL ⁻¹	0,91
Zenginleştirme faktörü	80

Tablo 4.14. 14 XAD-4 üzerine tutturulmuş *B. mojavensis* kullanarak U(VI) zenginleştirilmesi ve geliştirilen katı faz ekstraksiyonu metodunun analitiksel özellikleri

Parametre	
Lineer aralık, ng mL ⁻¹	1,25-18,75
R ²	0,9944
LOD, ng mL ⁻¹	0,20
LOQ, ng mL ⁻¹	0,66
Zenginleştirme faktörü	80

4.16. Sertifikalı Referans Madde Ve Doğal Örneklerde Geliştirilen Metotlarla U(VI) Tayini

Tablo 4. 15., 4.16., 4. 17 ve 4. 18'de *B. vallismortis*+MWCNT, *B. mojavensis*+MWCNT, *B. vallismortis*+XAD-4 ve *B. mojavensis*+XAD-4 tutturulmuş 4 farklı katı faz ekstraksiyon kolonları kullanılarak geliştirilen yeni yöntemlerin doğruluğu Su (NWTM-15), Deniz suyu (CASS-4) ve Sertifikalı çay örneği (NCSZC 73014) gibi farklı 3 sertifikalı referans materyeller kullanarak test edilmiştir. Geliştirilen 4 farklı yeni katı faz ekstraksiyon yöntemin doğruluğu %99'un üzerinde çıkmıştır.

Bunlara ilaveten doğal numunelerdeki uranyum miktarı önderiştirme yapılarak tespit edilmiştir. Bunun için Siirt, Mardin, Van, Diyarbakır ve Batman çeşme suyu, 2 farklı enerji içeceği, 2 farklı soda ve Van Göl'ü su örnekleri kullanılmıştır. Siirt, Mardin, Van, Diyarbakır ve Batman çeşme suyu, 2 farklı enerji içeceği ve 2 farklı soda örneklerinde U(VI) belirlenememiştir. Van musluk suyu örneğine 20,0 ng mL⁻¹ U(VI) eklendiğinde 4 farklı katı faz ekstraksiyon kolonunda %99'un üzerindeki doğruluk oranında U(VI)'nın seviyesi belirlenmiştir. Van gölü su örneği *B. vallismortis*+MWCNT, *B. mojavensis*+MWCNT, *B. vallismortis*+XAD-4 ve *B. mojavensis*+XAD-4 tutturulmuş 4 farklı katı faz ekstraksiyon kolonundan geçirildikten sonra ise her 4 kolonda U(VI) miktarı sırasıyla 75,5±5,1, 75,0±3,1, 74,6±5,0 ve 74,9± 4,1 ng mL⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Bunlara ilaveten, Van Göl'ü su örneklerine 20,0 ve 50,0 ng mL⁻¹ U(VI) eklenerek 4 farklı kolondan geçirildikten sonra U(VI) konsantrasyonu tespit edilmiştir.

Tablo 4.15. MWCNT üzerine tutturulmuş *B. vallismortis* kullanarak sertifikalı referans madde ve doğal örneklerde geliştirilen metotla U(VI) tayini

Örnek	Sertifika değeri ng mL ⁻¹	Bulunan değer ng mL ⁻¹
Su (NWTM-15)	14,5	14,5±1,1
Deniz suyu (CASS-4)	3,0	3,0±0,1
Sertifikalı çay örneği (NCSZC 73014) ¹	10±2	10±1,1
Musluk suyu (Siirt)	-	<LOD
Musluk suyu (Mardin)	-	<LOD
Musluk suyu (Van)	-	<LOD
Musluk suyu (Van) ²	-	19,8±2,3
Musluk suyu (Diyarbakır)	-	<LOD
Musluk suyu (Batman)	-	<LOD
Enerji içeceği-1	-	<LOD
Enerji içeceği-2	-	<LOD
Soda-1	-	<LOD
Soda-2	-	<LOD
Van Gölü suyu	-	75,5±5,1
Van Gölü suyu ²	-	95,0±4,3
Van Gölü suyu ³	-	125,3±4,3

¹ng g⁻¹

² 20,0 ng mL⁻¹ U(VI) ilave edildi

³ 50,0 ng mL⁻¹ U(VI) ilave edildi

Tablo 4.16. MWCNT üzerine tutturulmuş *B. mojavensis* kullanarak Sertifikalı referans madde ve doğal örneklerde geliştirilen metotla U(VI) tayini

Örnek	Sertifika değeri ng mL ⁻¹	Bulunan değer ng mL ⁻¹
Su (NWTM-15)	14,5	14,3±0,9
Deniz suyu (CASS-4)	3,0	3,0±0,3
Sertifikalı çay örneği (NCSZC 73014) ¹	10±2	10±0,4
Musluk suyu (Siirt)	-	<LOD
Musluk suyu (Mardin)	-	<LOD
Musluk suyu (Van)	-	<LOD
Musluk suyu (Van) ²	-	19,5±1,7
Musluk suyu (Diyarbakır)	-	<LOD
Musluk suyu (Batman)	-	<LOD
Enerji içeceği-1	-	<LOD
Enerji içeceği-2	-	<LOD
Soda-1	-	<LOD
Soda-2	-	<LOD
Van Gölü suyu	-	75,0±3,1
Van Gölü suyu ²	-	94,6±5,4
Van Gölü suyu ³	-	123,3±9,9

¹ ng g⁻¹

² 20.0 ng mL⁻¹ U(VI) ilave edildi

³ 50.0 ng mL⁻¹ U(VI) ilave edildi

Tablo 4.17. XAD-4 üzerine tutturulmuş *B. vallismortis* kullanarak sertifikalı referans madde ve doğal örneklerde geliştirilen metotla U(VI) tayini

Örnek	Sertifika değeri ng mL ⁻¹	Bulunan değer ng mL ⁻¹
Su (NWTM-15)	14,5	14,1±1,1
Deniz suyu (CASS-4)	3,0	2,9±0,2
Sertifikalı çay örneği (NCSZC 73014) ¹	10±2	10±1
Musluk suyu (Siirt)	-	<LOD
Musluk suyu (Mardin)	-	<LOD
Musluk suyu (Van)	-	<LOD
Musluk suyu (Van) ²	-	19,8±1,1
Musluk suyu (Diyarbakır)	-	<LOD
Musluk suyu (Batman)	-	<LOD
Enerji içeceği-1	-	<LOD
Enerji içeceği-2	-	<LOD
Soda-1	-	<LOD
Soda-2	-	<LOD
Van Gölü suyu	-	74,6±5,0
Van Gölü suyu ²	-	95,6±3,9
Van Gölü suyu ³	-	126,4±11,1

¹ ng g⁻¹

² 20,0 ng mL⁻¹ U(VI) ilave edildi

³ 50,0 ng mL⁻¹ U(VI) ilave edildi

Tablo 4.18. XAD-4 üzerine tutturulmuş *B. mojavensis* kullanarak sertifikalı referans madde ve doğal örneklerde geliştirilen metotla U(VI) tayini

Örnek	Sertifika değeri ng mL⁻¹	Bulunan değer ng mL⁻¹
Su (NWTM-15)	14,5	14,5±0,6
Deniz suyu (CASS-4)	3,0	3,1±0,21
Sertifikalı çay örneği (NCSZC 73014) ¹	10±2	10±0,7
Musluk suyu (Siirt)	-	<LOD
Musluk suyu (Mardin)	-	<LOD
Musluk suyu (Van)	-	<LOD
Musluk suyu (Van) ²	-	20,1±0,9
Musluk suyu (Diyarbakır)	-	<LOD
Musluk suyu (Batman)	-	<LOD
Enerji içeceği-1	-	<LOD
Enerji içeceği-2	-	<LOD
Soda-1	-	<LOD
Soda-2	-	<LOD
Van Gölü suyu	-	74,2± 4,1
Van Gölü suyu ²	-	93,5±6,6
Van Gölü suyu ³	-	122,2±10,1

¹ng g⁻¹

² 20,0 ng mL⁻¹ U(VI) ilave edildi

³ 50,0 ng mL⁻¹ U(VI) ilave edildi.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Sanayileşme ile birlikte atık sularındaki konsantrasyonları gittikçe artan ağır metallerin ve radyonüklitlerin, çevreye dolayısıyla yaşayan organizmalara negatif etkilerinin ortadan kaldırılması için, bu metal veya radyonüklitlerin bulaşmış olduğu suların arıtıma tabi tutulmaları gerekmektedir. Toksik madde miktarı fazla olan atık suların farklı kimyasal ve fiziksel yöntemlerle arıtımı mümkündür. Fakat bu şekildeki bir arıtım, küçük ve metal içeriği çok fazla konsantrasyonlarda olmayan endüstriyel işletmeler için maliyetli olmaktadır. Biyolojik arıtma metodları maliyet ve işletme açısından ekonomik olması nedeniyle endüstriyel ve evsel atık suların arıtılmasında yaygın bir kullanım alanına sahiptir. Ağır metaller ve radyonüklitler endüstriyel atık sularında yaygın olarak bulunmaktadır. Metal içeren belediye ve endüstriyel atık sularının deşarjı ile çevreye ve halk sağlığına olumsuz etkilerinden dolayı bu toksit bileşiklerin arıtımı ile ilgili çalışmalar büyük bir önem kazanmıştır.

Bu çalışmada Dr. Sadin ÖZDEMİR tarafından izole edilen ve tanımlanan termofilik karakterdeki bakterilerden *Bacillus vallismortis* ve *Bacillus mojavensis*'in U(VI) dirençliliği ve biyoakümülyasyonu incelenmiştir. Bunlara ilaveten bu termofilik bakteriler XAD-4 ve çok duvarlı karbon nanotüp miktarı (MWCNT) üzerine immobilize edilerek U(VI)'nin katı faz ekstraksiyonu ile bu bakterilerin çevre biyoteknolojisi açısından kullanılabilirliği çalışılmıştır. Uranyumun belirlenmesi Arsenazo-III kullanarak UV-spektrofotometrede belirlenmiştir.

Uranyum dirençlilik çalışmasında, *B. vallismortis* ve *B. mojavensis* için U(VI)'nin katı besiyerindeki MIC sonuçları sırasıyla; 82,5 mg/L ve 85 mg/L olarak saptanmıştır. Aynı zaman sıvı besiyerlerinde de *B. vallismortis* ve *B. mojavensis* için U(VI) MIC değerleri sırasıyla 15 mg/L ve 12,5 mg/L olarak bulunmuştur. Uranyum dirençlilik çalışmasında her iki bakterinin katı besiyerinde ve sıvı besiyerinde üreme üzerine etkisi sonucunda elde edilen MIC değerleri ile kıyaslayacak olursak bu termofilik bakterilerin katı besiyerinde sıvı besiyerine göre yaklaşık 7 kat daha dirençli oldukları saptanmıştır. Farklı U(VI) konsantrasyonlarının *B. vallismortis* ve *B. mojavensis*'in üremesi üzerine etkisi incelendiğinde ise *B. mojavensis*'in *B. vallismortis*'e göre daha duyarlı olduğu saptanmıştır. Artan U(VI) konsantrasyonuna bağlı olarak her iki bakterinin log fazının uzadığı saptanmıştır. Bilindiği gibi bakterilerin gelişim

evrelerinde toksik bileşiklere en duyarlı oldukları evre log fazıdır. Elde ettiğimiz sonuç bu veri ile uyum göstermektedir.

Yapılan biyoakümülyasyon çalışmaları sonucunda kullanılan mikroorganizmanın türü ve içerdiği temel bileşenlerin metal biyoakümülyasyon mekanizmasını açısından büyük önem gösterdiği belirtilmektedir. Hücrelerle yapılan metal biyoakümülyasyon çalışmalarında, hücre duvarlarında biyosorpsiyon hücre zarından karşılıklı taşınım, hücre dışı kapsüllerle bağlanma, kompleks oluşumu, çökelme ve yükseltgenme-indirgenme mekanizmalarının da içerisinde bulunduğu bir dizi mekanizmayla reaksiyon verirler (Dönmez ve Aksu, 2001). Yani metal biyoakümülyasyon mekanizmalarında çoklu kompleks reaksiyonlar dizininin rol oynadığını belirtebiliriz.

Bu çalışmada, *B. vallismortis* ve *B. mojavensis* için en yüksek biyoakümülyasyon kapasiteleri sırasıyla 50 mg U(VI)/g kuru bakteri ve 48,21 mg U(VI)/g kuru bakteri olarak saptanmıştır. Ayrıca, U(VI)'nin test edilen bakteriler tarafından biyoakümülyasyon kapasitelerinin gelişim döngüsünün değişik fazlarında değişkenlik gösterdiğini tespit edilmiştir. Bu bakteriler tarafından U(VI) biyoakümülyasyon kapasitelerinin değişkenliğini aktif bir mekanizma, dirençlilik, biyosorpsiyon ve metal efluks sistemlerinin birlikte rol oynadığını düşünebiliriz (Ozdemir ve ark., 2012). Bu termofilik bakterilerin U(VI) yüzde uzaklaştırma oranlarının ve biyoakümülyasyon kapasitelerinin oldukça yüksek olması çevre biyoteknolojisi açısından büyük bir önem arz ettiğini düşünmekteyiz.

Bu çalışmada ayrıca, kurutulmuş ölü *B. vallismortis* ve *B. mojavensis* XAD-4 ve MWCNT üzerine tutturularak bu dört farklı katı faz ekstraktörü kullanılarak U(VI)'un önderiştirilmesi çalışılmıştır. Biyosorpsiyondan önce ve sonra FT-IR ve SEM analizleri yapılmıştır. Ayrıca pH, akış hızı, biyosorbent ve XAD-4 ve çok duvarlı karbon nanotüp miktarı, elüent hacmi, konsantrasyonu ve türü, yabancı iyonları, örnek hacmi ve kolon kullanımı gibi farklı parametrelerin etkisi test edilmiştir. Yöntemin doğruluğu sertifikalı referans materyeller kullanarak geliştirilen yöntemin doğruluğu belirlenmiştir. Bunlara ilaveten doğal numunelerdeki uranyum miktarı önderiştirme yapılarak tespit edilmiştir.

pH katı faz çalışmalarında hem biyosorbentin yüzeyinde bulunan fonksiyonel gruplar üzerine hem de solüsyonun kimyası açısından önem arz ettiği bilinmektedir. Bu nedenle optimum pH katı faz ekstraksiyon çalışmalarında test edilmelidir. Bu çalışmada, optimum pH *B. vallismortis*+MWCNT, *B. mojavensis*+MWCNT, *B. vallismortis*+XAD-4 ve *B. mojavensis*+XAD-4 için sırasıyla 4,0-5,0, 4,0, 4,0-6,0 ve 4,0-5,0 olarak belirlenmiştir. Maksimum akış hızının 4 farklı katı faz kolonları için 2 mL/dk tespit

edilmiştir. Akış hızı arttıkça bir noktadan sonra kolonda biyosorbe veriminin düşmesi uranyum-biyosorbent etkileşim süresinin azalmasından dolayı kaynaklandığı düşünülmektedir. Uranyum gerikazanımı için biyosorbent miktarlarında etkileri çalışılmış ve her iki bakteri için optimum biyosorbent miktarının 150 mg olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda destek matriksinin etkileri çalışılmış ve her iki bakteri için optimum XAD-4 miktarının 800 mg ve MWCNT için ise 150 mg olduğu bulunmuştur. Kolonda biyosorbe olmuş U(VI)'nın desorbe edilmesi ve önderiştirilmesi için farklı konsantrasyonlar da ve hacimlerde HNO₃ ve HCl kullanılmış, en iyi eluasyon işleminin 5 mL 1,0 mol/L HCl ile yapıldığı belirlenmiştir. Örnek hacmi de katı faz ekstraksiyon çalışmalarında yüksek önderiştirme faktörü elde etmek için oldukça önemli parametrelerdendir. Bu çalışmada örnek çözelti hacminin 400 mL'ye kadar artmasıyla U(VI)'nin biyosorbsiyon verimlerinde değişme olmadığı, bu noktadan sonra ise biyosorbsiyon verimlerinde azalma olduğu bulunmuştur. Bu azalmayı, yüksek örnek hacimlerinde metal konsantrasyonu oldukça düşük olduğu için kolondan geçerken etkileşimin azalmasıyla açıklanabilir. Sonuç olarak 80 katlık bir önderiştirme faktörü ile U(VI) konsantre edilmiştir. Katı faz ekstraksiyon kolonlarının tekrar kullanılma oranının yüksek olması biyoteknolojik açıdan büyük önem arz etmektedir. Bu çalışmada kullanılan 4 farklı katı faz ekstraksiyon kolonunun 30 kullanım sonrasında U(VI)'nin kantitatif gerikazanım veriminin %95'den yüksek olduğu belirlenmiştir. Belirli miktardaki kolon maddesinin en yüksek ne kadar U(VI) tutabileceği yani biyosorblama kapasitesinin ne kadar olduğu çalışılmış ve biyosorpsiyon kapasiteleri *B. vallismortis*+MWCNT, *B. mojavensis*+MWCNT, *B. vallismortis*+XAD-4 ve *B. mojavensis*+XAD-4 için sırasıyla 23,6, 25,8, 24,9 ve 26,3 mg/g olarak saptanmıştır.

5.2. Öneriler

Tüm ülkelerin olduğu gibi ülkemizde en büyük sorunlarından biri enerji temini ve sürdürülebilirliğini sağlamaktır. Bu bağlamda en fazla üzerinde durulan ve ülkemizde elde edilmesi için yıllardır ciddi çalışmalar yapılan enerji türü nükleer enerjidir. Nükleer enerjinin elde edilmesi gibi, bu enerjinin kazanımının devam ettirilmesi noktasında da ciddi sorunlar vardır. Bu sorunlara baktığımızda nükleer enerjinin hammaddesi olan Uranyum ve Toryum gibi elementlerin elde edilmesi ve enerji üretimi sırasında oluşan atıklar en önemlileri olarak karşımıza çıkar.

Bütün bu zorluklar içersinde çevreye duyarlı, maliyeti ucuz ve verimliği yüksek bir yöntem geliştirmek çalışmamızın amacını oluşturdu. Çalışmamızın enerji alanındaki başarı sağlama potansiyeli ülke ekonomimize katkı sağlayıp cari açığın azalmasına olumlu etki sağlayacaktır.

Bu çalışma sonucunda *B. vallismortis* ve *B. mojavensis*'in U(VI) dirençli olduğu ve kültür ortamındaki U(VI)'yı yüksek oranda biyoakümüle ettiği tespit edilmiştir. Bu bakterilerin U(VI) biyoakümüasyonu yaparken aynı zamanda enzim biyoteknolojisinde yaygın olarak kullanılan α -amilaz enzimini yüksek verimde üretmeleri de ayrıca önem arz etmektedir. Dolayısıyla atık sularında uranyum içeren atık suların iyileştirilmesi sağlanırken eş zamanda α -amilaz üretimi de yapılarak ekonomik açıdan işletmeye katkı sağlayacağını da düşünmekteyiz.

Son yıllarda doğal sulardan özellikle deniz sularından uranyum kazanılması konusunda yapılan farklı biyosorbent çalışmalarına, bu termotolerant bakterilerin potansiyel alternatif bir doğal kaynak malzeme olarak hizmet edeceği olsıdır. Bu bakterilerin üretilmeleri basit ve ucuz ön işlemler gerektiğinden dolayı da maliyet açısından da oldukça ekonomik olacaktır.

Geliştirdiğimiz yöntemde kullandığımız termofilik karakterdeki bakterilerden *B. vallismortis* ve *B. mojavensis*'in sadece uranyum prekonsantrasyonu için değil diğer ağır metaller içinde kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Yöntemimiz uranyumun doğal numunelerden uzaklaştırılarak saflaştırılmasına yönelik olsa da, santrallerin, fabrikaların, geri dönüşüm merkezlerinin atık ünitelerinde de kullanılmaya olanak sağlayacak yapıdadır.

Çalışmamızda uranyumun UV-spektrofotometre ile miktar tayininin tespitini basit, hızlı ve ucuz bir süreçte gerçekleştirmeyi sağlayan yeni bir yöntem geliştirdik. Bu yöntemin biyoteknolojide kullanılması ile zaman ve maliyet giderlerini düşürmesinden dolayı da büyük bir katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Uranyumun yakıt olarak kullanıldığı nükleer enerji üretiminin değişik basamaklarında atık olarak ortaya çıkabilecek düşük derişimli sulu uranyumun ve diğer bazı metallerin giderilmesinde, toksite problemi olmayan bu dirençli bakterilerin kullanılmaları; basit işlem, ekonomik avantaj sağlaması, yüksek gerikazanım verimi ve doğal bir biyosorbent olmaları açısından iyi bir alternatif oluşturacaktır. Uranyum madenciliği sonucunda ortaya çıkabilecek atık suların iyileştirilmesi, maden çevresindeki yer altı su kaynaklarına bulaşma durumunda yer altı sularından uranyumun

giderilmesi konularında anılan doğal biyosorbentlerin geliştirilen yeni katı faz ekstraksiyon yöntemlerinin kullanım olanağı sağlayabilecektir.

Ülkemizde mevcut literatürlerden de görüleceği üzere termofilik bakterilerin çevre biyoteknolojisinde kullanımı ile ilgili çalışmalar çok kısıtlı ve az sayıdadır. Çalışmamızın verilerinden de anlaşılacağı üzere termofilik karakterdeki bakteriler bir çok alanda kullanılmaya adaydır. Bu çalışmanın yeni çalışmalar için örnek teşkil edeceğini düşünmekteyiz. Özellikle biyoteknolojileri uygulamalarda kullanılacak yeni alternatif biyosorbent kullanılması mümkün olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Abe, K., et al. 2002 "Improved measurement of mixing-induced CP violation in the neutral B meson system." *Physical Review D* 66.7
- Akar, T., ve Tunali, S. 2006. Biosorption characteristics of *Aspergillus flavus* biomass for removal of Pb (II) and Cu (II) ions from an
- Akhtar, K., Khalid, A.M., Akhtar M.W. and Ghauri, M.A., 2009, Removal and recovery of uranium from aqueous solutions by Ca-alginate immobilized *Trichoderma*
- Allan, R. 1997. Introduction: mining and metals in the environment. *J. Geochem. Expl.* 58:95- 100.
- Alothman, Z. A., Yilmaz, E., Habila, M., & Soylak, M. 2015. Solid phase extraction of metal ions in environmental samples on 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol
- Ames, B.N., Mc Cann, J., & Yamasaki, E. 1975 Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella* / mammalian-microsome mutagenicity.
- Anthemidis, A.N., Zachariadis, G.A., Stratis, J.A., 2001. On-line solid phase extraction system using PTFE packed column for the flame atomic absorption spectrometric determination of copper in water samples. *Talanta* 54, 935–942.
- Aslan S., Bozkurt Z., Tekeli A.N., 2007. Cu (II), Ni (II), Cd (II) ve Cr (VI) iyonlarının Sulu Çözeltilerden Biyosorpsiyon Yöntemi ile Giderilmesi. *Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi*. 25: 209-222.
- Bağ, H., 1998. Bazı Elementlerin Mikroorganizma İmmobilize Edilmiş Sepiolitte Zenginleştirme Şartlarının Araştırılması ve Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi.
- Bahar, N., Arasan, T., Altundoğan, H. S., & Tümen, F., 2015. Formaldehit İle Modifiye Edilmiş Şeker Pancarı Küspesi Kullanılarak Kesikli Sistemde Sulu Science And Techn.
- Bakar, C., Baba, A., 2009. Metaller ve İnsan Sağlığı: Yirminci Yüzyıldan Bugüne Ve Geleceğe Miras Kalan Çevre Sağlığı Sorunu, Tıbbi Jeoloji Çalıştayı, Nevşehir.
- Baker, R. J., 2014. Uranium mineral sand their relevant environmental term storage of nuclear fuels. *Coordination Chemistry Reviews*, 266, 123-136.
- Baliza, P.X., Lemos, V.A., 2005 Amberlite XAD-2 functionalized with 2-inothiophenol, as a new sorbent for on-line preconcentration of cadmium and copper, *Talanta*.
- Bend, J., Bolger, M., Knaap, A. G., Kuznesof, P. M., Larsen, J. C., Mattia, A., Vavasour, E., 2006. Evaluation of certain food additives and contaminants. *World Health Organization technical report series*, (947), 1-225.
- Bezerra, M.A., Dos Santos, W.N.L., Lemos, V.A., Korn, M. G. A., Ferreira, S. L. C. 2007. On-line system for preconcentration and determination of metals in vegetables by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Journal of Hazardous Materials*, 148, 334–339.
- Brehigna, C., Houdy, P. and Lahmani, M., 2006. *Nanomaterials and Nanochemistry*, Springer, Belin-Fransa, 474s.

- Burnett, P.G.G., Daughney, C.J., Peak, D., 2006 Cd adsorption onto *Anoxybacillus flavithermus*: Surface complexation modeling and spectroscopic investigations. *Geo. et Cosm. Acta.* 70:5253–5269.
- Bustard, M., and McHale, A.P., 1998. Biosorption of heavy metals by distillery-derived biomass, *Bioprocess Engineering*, 19:351-353.
- Buszewski, B., & Szultka, M., 2012. Past, present, and future of solid phase extraction: a review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 42(3), 198-213.
- Bernfeld, P., 1955. Enzymes carbohydrate metabolism, *In Methods In Enzymology Academic Pres*, 17, 149–158.
- Chemistry., [ftp://178.213.241.33/Soft/Docs/books/B_Biology/Duffus%20J.H.,%20Worth%20H.G.J.\(eds.\)%20Fundamental%20toxicology%20\(2ed.,%20RSC,%202006%20\(ISBN%200-04-700131-9\)\)](ftp://178.213.241.33/Soft/Docs/books/B_Biology/Duffus%20J.H.,%20Worth%20H.G.J.(eds.)%20Fundamental%20toxicology%20(2ed.,%20RSC,%202006%20(ISBN%200-04-700131-9))).
- Christie, [www Solid-PhaseExtractionColumnsInThe Analysis Of Lipids. http://lipidlibrary.aocs.org/Analysis/content.cfm?ItemNumber=40386](http://lipidlibrary.aocs.org/Analysis/content.cfm?ItemNumber=40386)
- Constantine, D.S, Constantina I.C, George A.P., 2004. Enrichment of PAHsand heavymetals in soils in the vicinity of the lignitr-fired powerplants of West Macedonia(Greece). *The Science of the Total Environment* 204, 135-146.
- Cooney, E., vd., 1992, *Toxicity Reduction Evaluation and Control*, Water Qualify Management Library., 3,237, USA.
- Costa, A.C.A., And Duta, F.P., 2001. Biyoaccumulation of copper, zinc, cadmium and lead by *Bacillus* sp. *Bacillus cereus*, *Bacillus sphaericus* and *Bacillus subtilis*. *Braz.J. Microbiol.* 32:876-887.
- Costa, A.C.A., and Leite, S.G.F., 1991. Metal biosorption by sodium alginate immobilized *Chlorella homospaera*. *Biotechnol. Lett.* 13:559-562
- Çelebi, H., 2013. *Anoxybacillus kamchatkensis subs. assaccharedens* (KG8) Tutturulmuş Amberlite XAD-4 kullanılarak katı faz ekstraksiyonunu ile Zn (II) ve Mn (II) iyonlarının faasile tayini. Yüksek lisans tezi .Kimya Anabilim dalı Diyarbakır.
- Diñçer, K., F. N., Atakol, O., & Doğan, S., 2014. Katı Faz Ekstraksiyonu ile Bakır ve Nikelin Onderiştirilmesinde ONNO ve ONO Tipi Schiff Bazlarının Karşılaştırılması. *Suleyman Demirel University Journal of Science*, 9(1).
- Domingo, J. L., 1998. Developmental toxicity of metal chelating agents. *Reproductive toxicology*, 12(5), 499-510.,
- Donat, R., Çılgı, G.K., Aytas, Ş., Çetişli, H., 2009. Thermodynamic parameters and sorption of U(VI) on ACS-D, *Journal of Radioanalytical And Nuclear Chemistry*, 279(1):271-280.
- Dönmez, R., 2006 Doğal Kil Mineralleri Kullanarak Atık Sulardan Kurşun İyonunun Adsorpsyonu. Yüksek Lisans Tezi. Celal Bayar Üniversitesi. Manisa.
- Dönmez, G., Aksu, Z., 2000, Bioaccumulation of Copper (II) and Nickel (D) By The Non- Adapted And Adapted Growing *Candida* Sp., *Wat. Res.*, 35, 1425-1434.
- Duffus, J. H., & Worth, H. G. 1996. *Fundamental toxicology for chemists.* Royal Society of

- Eccles, H., 1999. Nuclear waste management, Choppin and Khankhasayev (Eds), Kluwer Academic Publishers, Netherlands, ISBN 0 7923 5638 1
- Ekdal, A., Ertüek, F. ve Goncaoğlu, B. İ., 2000. Termik Santrallerle Nükleer Santrallerin Çevresel Etki Değerlendirmesi Açısından Karşılaştırılması, İstanbul.
- Ellis, J., 2016. RivnaGreen at Movement Against Uranium Mining march, 3rd August 1978. Fonds:[1999.0081]" ELLIS, JOHN".
- Falaki, F., & Berijani, S., 2016. Aspartic acid-modified magnetic nanoparticles as an ideal sorbent for solid phase extraction of Pb in water samples prior to ICP-OES.
- Francis, A.J., 1994. Microbial transformations of radioactive wastes and environmental restoration through bioremediation, Journal of Alloys and Compounds, 213/214:226-231.
- Gazso, L.G., 2001. The Key Microbiological Processes in the Removal of Toxic Metals and Radionuclides from the Environment. *CeJoem*;v7:178-185.
- Ghaedi, M., Ahmadi, F., Soylak, M., 2007. Preconcentration and separation of nickel, copper and cobalt using solid phase extraction and their determination in some real samples. *J Hazard Mater* 147:226–231.
- Goyer, R. A., & Clarkson, T. W., 1996. Toxic effects of metals. Casarett & Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons, Fifth Edition, Klaassen, CD [Ed]. McGraw-Hill Health Professions Division, ISBN, 71054766.
- Green-Ruiz C., Tirado V.R., Gil B.G., 2008. Cadmium and zinc removal from aqueous solutions by *Bacillus jeotgali*: pH, salinity and temperature effects. *Bioresource Technology*. 99:3864–3870.
- Guley, M., Vural, N., 1976. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Toksikoloji Kitabı .
- Gürbüz, N., 2015. Endüstride kullanılan maddelerin toksik etkileri. *Mesleki Sağlık ve Güvenlik Dergisi (MSG)*, 7(25).
- Haginaka, J., 2005. Selectivity of affinity media in solid phase extraction of analytes. *Trends in Analytical Chemistry* 24-5: 407-15
- Hagiwara, K., Inui, T., Koike, Y., Aizawa, M., & Nakamura, T., 2015. Speciation of inorganic arsenic in drinking water by wavelength-dispersive X-ray fluorescence spectrometry after in situ pre-concentration with miniature solid-phase extraction disks.
- Hamutoğlu, R., Dinçsoy, A. B., Cansaran, D., & ARAS, S., 2012. Biyosorpsiyon, adsorpsiyon ve fitoremediasyon yöntemleri ve uygulamaları. *Türkiye Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69, 69.
- Hema, V. V. S. P. C., & Tiwari, B. R., 2014. Method development of Pioglitazone by UV Spectrophotometer. *International Journal of Drug Development and Research*.
- Han R., Li H., Li Y., Zhang J., Xiao H., Shi J., 2006. Biosorption of copper and lead ions by waste beer yeast. *J. Of Hazard. Mat.* 137:1569-1576.
- Hassen., S.N., Cherif, M. & Baudabous, A., 1998 (a). Resistance of environmental bacteria to heavy metals. *Bioresource Technology*. 64:7–15.

- Hiçsönmez, Ü., ve Eral, M., 2015. Ekstraksiyon Kromatografi İle Düşük Düzey Laboratuvar Atık Çözeltilerinden Uranyum AyırımıThe Separation Uranium From Low Level Radio activite Waste Solutions By Extraction Chromatography. Celal Bayar University Journal.
- <http://www.tenva.org/turkiyede-toryum-enerji-ekonomi-ve-siyasette-firsatlar-raporu-yayinda/>
- https://tr.wikipedia.org/w/index.php?title=Dosya:Elektromanyetik_Tayf_TR.jpg&filetimestamp=20080521084926&
- <https://www.oecd-nea.org/ndd/pubs/2014/7209-uranium-2014.pdf>
- Hu, Z., C.M. and Reeves, M., 1997. Biosorption of uranium by *Pseudomonas aeruginosa* strain CSU immobilized in a novel matrix, *Biotechnol. Prog.*, 13 (1):60-70.
- Iijima, S., 1991. Helical microtubes of graphitic carbon, *Nature*, 354: 56
- Ishikawa, S.I., Suyama K., Arihara K., Itoh M., 2002. Selective recovery of uranium and thorium ions from dilute aqueous solutions by animal biopolymers, *Biological Trace Element Research*, 86 (3): 227-236.
- Kalyoncuoğlu, N. C., Anadolu, A. B., Erel, Y., 2010. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi,14-1, Isparta Şehir Merkezi Yüzey Topragındaki Radyoaktivite Düzeyi.
- Kadukova, J., Vircikova, E., 2004. Comparison of Differences Between Copper Bioaccumulation and Biosorption, *Environment International.*, 31,227-232.
- Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., Timur, S. 2003. Metallerin Çevresel Etkileri- I. Metalürji Dergisi. 136: 47 - 53.
- Karadağ, M., 2002. Uranyumun Geri Kazanılmasında Serbest ve İmmobilize,Edilmiş Alginin Biyosorbent Olarak Kullanılabilirliğinin İncelenmesi, DoktoraTezi, E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, İzmir,
- Kilinc, E., Dundar, A., Ozdemir, S., Okumus, V., 2013. "Solid Phase Extraction Based on the Use of *Agaricus arvensis* as a Fungal Biomass for the Preconcentrations of Pb and Al Prior to Their Determination in Vegetables by ICP-OES" *Atomic Spectroscopy*, 34:78-88.
- Kilinc, E., Dundar, A., Ozdemir, S., Okumus, V., 2013a, Solid Phase Extraction Based on the Use of *Agaricus arvensis* as a Fungal Biomass for the Preconcentrations of Pb and Al Prior to Their Determination in Vegetables by ICP-OES, *Atomic Spectr.*
- Kilinc, E., Dundar, A., Ozdemir, S., Okumus, V. 2013b. Preconcentration of Sn in real water samples by solid phase extraction based on the use of *Helvella leucopus* as a fungal biomass prior to its determination by ICP-OES. *Atomic Spectroscopy*, 34, 133–137.
- Korentajar, L., 1991. A review of the agricultural use of sewage sludge. Benefits and potential hazards. *Water SA*. 17 (3) 189-196 ..
http://www.wrc.org.za/Lists/Knowledge%20Hub%20Items/Attachments/6539/WaterSA_1991_17_0629_abstract.pdf
- Kubota, M., Yamaguchi, I., Morita, Y. and Yamagishi, I., 1997. Separation of technetium from high-level liquid waste, *Radiochemistry*, 39(4): 299-303.

- Le Blanc G., (2001). A review of EPA sample preparation techniques for organic compound analysis of liquid and solid samples. LCGC North America 19: 1120-1130
- Li, Y., Weng, Z., Wang, Y., Chen, L., Sheng, D., Liu, Y., ... & Wang, S. (2015).
- Liu, T. B., Zhou, Y., Lv, J., Chen, Z. W., Li, B. B., & Shi, Y. (2013). Authentication of edible vegetable oil and refined recycled cooking oil using a micro-UV spectrophotometer based on chemometrics. Journal of the American Oil Chemists' Society, 90(11). General Microbiol. 130, 53-62.
- Macaskie, E.L., Dean, A.C.R., 1984. Cadmium Accumulation by a *Citrobacter* sp. J. Of General Microbiol. 130, 53-62.
- Macherey-Nagel Catalogue. Solid Phase Extraction (SPE) Guide. ftp://ftp.mn-net.com/english/Flyer_Catalogs/Chromatography/SPE/SPE_Applis.pdf.
- Macherey-Nagel 2004. Sample Preparation, Solid Phase Extraction. In: Macherey-Nagel Catalogue 184-241
- Markert, B., 1993. Plants as biomonitors: indicators for heavy metals in the terrestrial environment. VCH Publishers Ltd., <https://books.google.com.tr/books?id=FRJsgZXxUMC&pg=PA742&lpg=PA742&dq=Plant+as+biomonitors:+Indicators+for+heavy+metals>.
- Melanie, M. S., Kabwe Nkongolo and, E. C. 2013. Coping Mechanisms of Plants to Metal Contaminated Soil, Environmental Change and Sustainability, Dr. Steven Silvern (Ed.), InTech, DOI:10.5772/55124. Available from: <http://www.intechopen.com/b>
- Mingxue, L., Dong, F., Yan, X, Zeng, W., Hou, L., Pang, X., 2010. Biosorption of uranium by *Saccharomyces cerevisiae* and surface interactions under culture conditions, Bioresource Technology 101 8573–8580
- Munzuroğlu, Ö., Gür, N., 2000. Ağır Metallerin Elma (*Malus sylvestris* Miller cv. Golden)'da Polen Çimlenmesi Ve Polen Tüpü Gelişimi Üzerine Etkileri. Turk J. Biol. (24) 677 - 684.
- Nakajima, A., Tsuruta, T., 2004. Competitive biosorption of thorium and uranium by *Micrococcus luteus*. J. of Radioanal. and Nuclear Chem. 260:1,13-18.
- Naveed, S., Shah, S. N., Qamar, F., Waheed, N., & Nazeer, S. 2014. Simple UV spectrophotometric assay of Lincomycin. IJPRDD, 1(2), 10-12.
- Nourbakhsh, M., Sağ, Y., Özer, D., Aksu, Z., Katsal, T. and Calgar, A., 1994. A comparative study of various biosorbents for removal of chromium(VI) ions from industrial wastewater. Process Biochemistry. 29:1–5.
- Ozbal, Y., 2015. Uranyum Filizlerini Bakteriler Yardımı İle Zenginleştirme Metodu. Acta Biologica Turcica, 23(1-4), 68-72.
- Ozcan, A. S., BAÜ Fen Bil. Enst. Dergisi Cilt 12(2) 85-97 (2010). Doğal Bentonit Karakterizasyonu ve Kurşun(II) İyonlarını Adsorpsiyon Yeteneği Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Yunus Emre Kampüsü, 26470 Eskişehir.
- Ozdemir, S., Kilinc, E., 2012. *Geobacillus thermoleovorans* immobilized on Amberlite XAD-4 resin as a sorbent for solid phase extraction of uranium(VI) prior to its spectrophotometric determination.

- Ozdemir, S., Kilinc, E., Erdogan, S., 2010b. *Bacillus* sp. immobilized on Amberlite XAD-4 resin as a biosorbent for solid phase extraction of thorium prior to UV-vis spectrometry determination.
- Ozdemir, S., Kilinc, E., Poli, A., Nicolaus, B., 2013 a. Biosorption of heavy metals (Cd²⁺, Cu²⁺, Co²⁺ and Mn²⁺) by thermophilic bacteria, *Geobacillus thermantarcticus* and *Anoxybacillus amylolyticus*: equilibrium and kinetic studies, *Bioremedi*
- Ozdemir, S., Kilinc, E., Poli, A., Nicolaus, B., 2013., Resistance and Bioaccumulation of Cd²⁺, Cu²⁺, Co²⁺ and Mn²⁺ by thermophilic bacteria, *Geobacillus thermantarcticus* and *Anoxybacillus amylolyticus*" *Annals of Microbiology*, 63:1379-1385.
- Ozdemir, S., Kilinc, E., Okumus, V., Poli, A., Nicolaus, B., Romano, I., 2016. "Thermophilic *Geobacillus galactosidasius* sp nov. loaded γ -Fe₂O₃ magnetic nanoparticle for the preconcentrations of Pb and Cd", *Bioresource Technology*, 201:269-275.
- Ozdemir, S., Okumus, V., Dundar, A., Kilinc, E., 2014. "The use of fungal biomass *Agaricus bisporus* immobilized on Amberlite XAD-4 resin for the solid phase preconcentration of thorium", *Bioremediation Journal*, 18:35-45.
- Ozdemir, S., Okumus, V., Dundar, A., Celik, K.S., Yuksel, U., Kilinc, E., 2014b. Selective preconcentration of Lanthanum(III) by *Coriolus versicolor* immobilized on Amberlite XAD-4 and its determination by ICP-OES, *International Journal of Enviro*.
- Ozdemir, S., Okumus, V., Dundar, A., Kilinc, E., 2013. A review on preconcentration of metal ions by bacteria, *Microchimica Acta*, 180:719-739.
- Ozdemir, S., Okumus, V., Dundar, A., Kilinc, E., 2014a. The use of fungal biomass *Agaricus bisporus* immobilized on Amberlite XAD-4 resin for the solid phase preconcentration of thorium, *Bioremediation Journal*, 18:35-45.
- Ozdemir, S., Okumus, V., Kilinc, E., Bilgetekin, H., Dundar, A., Ziyadanogulları, B. 2012b. *Pleurotus eryngii* immobilized Amberlite XAD-16 as a solid-phase biosorbent for preconcentrations of Cd²⁺ and Co²⁺ and their determination by ICP-OES, *Tal*
- Ozdemir, S., F. Matpan, K. Guven, Z. Baysal, 2011. "Production and characterization of partially purified extracellular thermostable α -amylase by *Bacillus subtilis* in Submerged fermentation (SmF)", *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 41:365-381.
- Ozdemir, S., Gul-Guven, R. Kilinc, E. Dogru, M. Erdogan, S. 2010a. Preconcentration of cadmium and nickel using the bioadsorbent *Geobacillus thermoleovorans* subsp. *stromboliensis* immobilized on Amberlite XAD-4", *Microchimica Acta*, 169:79–85.
- Ozdoğan, M., 2006. Flow Structure in the downstream of square and circular cylinders, *Flow Measurement and Instrumentation*, 17 (4), 225-235.
- Pehlivanli, B. Y., KOÇ, Ç., Sari, A., & Engin, H. 2014. Factors Controlling Low Uranium and Thorium Concentrations in the Çayirhan Bituminous Shales (ÇBS) in the Beypazari (Ankara) Area, Turkey. *Acta Geologica Sinica* (English Edition), 88(1), 248-259.

- Qiu, J. L., Kang, X. J., Ma, L., Huang, W. Y., & Ge, Q. Y. 2015. Preparation and application of poly 3, 4-ethylenedioxythiophene (PEDOT) nanofibers in the pretreatment of samples before the determination of elements in children fingernails. In IOP.
- San, N. O., Ankara, Ağustos 2007. Ankara üniversitesi biyoteknoloji enstitüsü temel biyoteknoloji anabilim dalı yüksek lisans tezi ağır metal ve boyar madde içeren atıksuların rhodotorula sp. İle arıtımı.
- Sağ, Y., Nourbakhsh, M., Özer, D., Aksu, Z., Kutsal, T., ve Çağlar, A., 1992. Atık sulardaki kurşun(II) kirliliğinin adsorbsiyon yöntemi ile giderilmesinde çeşitli biyosorbentlerin karşılaştırılması, VIII. Kimya ve Kimya Mühendisliği Sempozy
- Sezer, H. 2009. Kimyasal olarak modifiye edilmiş kahverengi makro alglerin uranyum biyosorpsiyonunun incelenmesi, Doktora Tezi, E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, İzmir.
- Solid Phase Extraction (SPE) Filters. http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Supelco/General_Information/t402150.pdf
- Starvin, A.M., 2004 T. Prasada Rao, Solid phase extractive preconcentration of uranium(VI) onto diarylazobisphenol modified activated carbon, Talanta 63 225–232
- Sadeghi, S., Azhdari, H., Arabi, H., Zeraatkar A., M., 2012. Surface modified magnetic Fe₃O₄ nanoparticles as a selective sorbent for solid phase extraction of uranyl ions from water samples, Journal of Hazardous Materials 215/216/208/ 216.
- Suharso, S., Buhani, B., Sumadi, S. 2010. Immobilization of *S. duplicatum* supported silica gel matrix and its application on adsorption–desorption of Cu (II), Cd (II) and Pb (II) ions. Desalination 263:64–69
- Şaşmaz, A., 2008. Köprübaşı (Manisa), uranyum yatağı çevresinde toprak, su ve bitki örneklerinde, uranyum düzeyleri ve olası çevresel etkilerinin belirlenmesi. TÜBİTAK Proje, (107Y226).
- Tayyebi, A., Khanchi, A., Ghofrani, M.B., Outokes M., 2010, Synthesis and characterization of a bentonite-alginate microspherical adsorbent for removal of uranyl ions from aqueous solutions, Separation Science and Technology, 45:288-298
- Theodorakopoulos N., Chapon V., Coppin F., Floriani M., Vercouter T., Sergeant C., Camilleri V., Berthomieu C., Février L., 2015. Use of combined microscopic and spectroscopic techniques to reveal interactions between uranium and *Microbacterium* sp. A9, a strain isolated from the Chernobyl exclusion zone. J Hazard Mater. 285, 285-293.
- Tucker, M.D., Barton, L.L., and Thomson, B.M., 1998. Removal of U and Mo from water by immobilized *Desulfovibrio desulfuricans* in column reactors, Biotechnology and Bioengineering, 60 (1):88-95.
- Tübitak, 2004. Biyoteknoloji ve Gen Teknolojileri Stratejileri. VİZYON 2023, Ağustos.
- Türközü, A., 2006. İmmobilize biyosorbentlerin geliştirilmesi ve uranyumun ayrılmasında kullanılması, Yüksek Lisans Tezi, E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, İzmir.

- Volesky, B., May, H., Holan, Z.R., 1993. Cadmium biosorption by *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol. Bioeng.* 41, 826–829.
- Volesky, B., 1987. "Biosorbents for metal recovery." *Trends in Biotechnology* 5.4: 96-101.
- Vural, N., 2005. Toksiloloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, <http://kitaplar.ankara.edu.tr/dosyalar/pdf/291.pdf>
- Wales, D.S., and Sagar, B.F., 1990. Recovery of metal ions by microfunga filters, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 49:345-355.
- Wikipedia, Carbon Nanotube, http://en.wikipedia.org/wiki/File:Multiwalled_Carbon_Nanotube.png, (Erişim tarihi, 8 Kasım 2016).
- Woods, P., Edge, R., Fairclough, M., Fan, Z., Hanly, A., Angoula, I. R. M. D., &Voitsekhovych, O. (2015). IAEA Initiatives Supporting Good Practice in Uranium Mining Worldwide. In *Uranium-Past and Future Challenges* (pp. 31-40). Springer Internati.
- World Uranium Mining Production, <http://www.world-nuclear.org/information-library/nuclear-fuel-cycle/mining-of-uranium/world-uranium-mining-production.aspx>
- www.wikipedia.org/wiki/N%C3%BCkleer_enerji (Erişim Tarihi: 09.10.2016)
- Xiao, R., Bai, J., Huang, L., Zhang, H., Cui, B., & Liu, X. 2013. Distribution and pollution, toxicity and risk assessment of heavy metals in sediments from urban and rural rivers of the Pearl River delta in southern China. *Ecotoxicology*, 22(10), 1564.
- Xiaolong, LiDing, C., Liao, J., Du, L., Sun, Q., Yang, J., Yang, Y., Zhang, D., Tang, J., Liu, N., 2016 Bioaccumulation characterization of uranium by a novel *Streptomyces sporoverrucosus* dwc-3, *Journal Of Environmental Sciences* 41 162 – 171
- Xiaolong L., Ding, C. Liao, J., Lan, T., Feize Li, Zhang, D., Yang, J., Yang, Y., Luo, S. Tang, J., Ning Liu, 2014. Biosorption of uranium on *Bacillus* sp. dwc-2: preliminary investigation on mechanism, *Journal of Environmental Radioactivity* 135 6-12
- Xu, M., Yang, L., & Wang, Q., 2013. Chemical interactions of mercury species and some transition and noble metal towards metallothionein (Zn 7 MT-2) evaluate using SEC/ICP-MS, RP-HPLC/ESI-MS and MALDI-TOF-MS. *Metallomics*, 5(7), 855-860.
- Vijayaraghavan, K., Yun. Y.S., 2008. Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnology Advances*. 26:266–291.
- Yıldız, N., 2004. Toprak ve Bitki Ekosistemindeki Ağır Metaller. ZT-531. Yüksek Lisans Ders Notları. Erzurum.
- Yılmaz, I.E., 2003. Metal tolerance and biosorption capacity of *Bacillus circulans* strain EB1. *Research in Microbiol.* 154:409–413.
- Yusan, S., Gok, C., Erenturk, S., & Aytas, S., 2012. Adsorptive removal of thorium (IV) using calcined and flux calcined diatomite from Turkey: evaluation of

equilibrium, kinetic and thermodynamic data. *Applied Clay Science*, 67, 106-116.

Zhang, J. P., Liu, Z. R., & Wang, L. 2016. Uranium demand and economic analysis of different nuclear fuel cycles in China. *Energy Strategy Reviews*, 9, 50-61.

Zheng-ji Y., Jun Y., Hui-lun C., Fei W., Zhi-min Y., Liu X., 2016 *Journal of Environmental Radioactivity* 154 43-51. Uranium biosorption from aqueous solution onto *Eichhornia crassipes*.

Zheljaskov, V. D., & Nielsen, N. E., 1996. Effect of heavy metals on Peppermint and cornmint. *Plant and Soil*, 178(1), 59-66.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı Mehmet Kadir ODUNCU
Doğum Yeri ve Tarihi Siirt 1979
Telefon 05422754637
E-posta mehmetkadir@yahoo.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Siirt Lisesi	1997
Üniversite	: Dicle Üniversitesi, Merkez, Diyarbakır	2004
Yüksek Lisans	: Siirt Üniversitesi, Merkez, Siirt	2016
Doktora	: -	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2004-2011	Siirt Devlet Hastanesi	Sağlık Mem
2011-2012	Siirt Halk Sağlığı Laboratuvarı	Sağlık Mem
2012-2016	Siirt Devlet Hastanesi	Sağlık Mem
2016-	Siirt Kamu Hastaneleri Genel Sek.	Sağlık Mem

UZMANLIK ALANI

Bakteriyoloji Ve Mikrobiyal Biyoteknolojisi

YABANCI DİLLER

İngilizce
Arapça