

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

*Anoxybacillus kamchatkensis subs. assaccharedens (KG8)*  
**TUTTURULMUŞ AMBERLİT XAD-4 KULLANARAK KATI FAZ**  
**EKSTRAKSİYONU İLE Zn (II) VE Mn (II) İYONLARININ FAAS**  
**İLE TAYİNİ**

**Hüsniye ÇELEBİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**DIYARBAKIR**  
**HAZİRAN 2013**

**T.C.**  
**DİCLE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ**  
**DİYARBAKIR**

Hüsniye ÇELEBİ tarafından yapılan “*Anoxybacillus kamchatkensis subsp. assaccharedens* (KG8) tutturulmuş Amberlit XAD-4 Kullanarak Katı Faz Ekstraksiyonu ile Zn (II) ile Mn (II) İyonlarının FAAS ile Tayini” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından KİMYA Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Kemal GÜVEN

Üye : Doç. Dr. Sait ERDOĞAN

Üye : Doç. Dr. Mehmet DOĞRU

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 24 /06/ 2013

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../...../2013

Prof. Dr. Hamdi TEMEL

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans çalışmalarım esnasında bilgi ve tecrübesinden yararlandığım, deneysel konularda bana gerekli koşulları sağlayan ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Hocam Doç. Dr. Mehmet DOĞRU' ya teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarım sırasında benden yardımlarını esirgemeyen, çalışmalarımda bana bire bir yardımcı olan Sayın Doç. Dr. Reyhan Gül Güven ile Sayın Yrd. Doç. Dr Mehmet Hüseyin ALKAN hocalarıma teşekkür ederim.

Her türlü bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Sayın Prof. Dr. Kemal GÜVEN ile Sayın Doç. Dr. Sait ERDOĞAN hocalarıma teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarım esnasında bana maddi ve manevi yardımcı olan eşim Bülent ÇELEBİ' ye de teşekkür ederim.

DÜBAP-12-ZEF-26 No'lu "Farklı Metal Konsantrasyonlarının Bazı Termofilik Bakteri Türlerinin Üreme ve Metal Biyoakümülyasyonu Üzerine Etkisi" konulu projeme vermiş olduğu destekten dolayı DUBAP' a teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
<b>TEŞEKKÜR</b>	I
<b>İÇİNDEKİLER</b>	II
<b>ÖZET</b>	V
<b>ABSTRACT</b>	VI
<b>TABLO LİSTESİ</b>	VII
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	VIII
<b>1.GİRİŞ</b>	1
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b>	5
2.1. Ağır Metaller	5
2.1.1. Çinko (Zn)	5
2.1.2. Mangan (Mn)	7
2.2. Ayırma ve Zenginleştirme Yöntemleri	7
2.2.1. Ekstraksiyon ile Zenginleştirme	8
2.2.1.1. Dağılma Katsayısı	9
2.2.1.2. Dağılma Oranı	9
2.2.2. Birlikte Çöktürme ile Zenginleştirme	10
2.2.3. Elektrolitik Zenginleştirme	11
2.2.4. İyon Değişirme	11
2.2.5. Uçurma ile Zenginleştirme	12
2.2.6. Adsorbsiyon ile Zenginleştirme	12
2.2.7. Kolon Kromatografisi ile Eser Element Zenginleştirme Teknikleri	12
2.2.7.1. Modifiye Edilmemiş Reçineler Üzerinde Ayırma ve Zenginleştirme	13
2.2.7.2. İmmobilize (Kimyasal bağlı) Reçineler Üzerinde Ayırma ve Zenginleştirme	13
2.2.7.3. İmprinted (Baskılı) Reçineler Üzerinde Ayırma ve Zenginleştirme	14
2.2.7.4. İmpregnated (Doyurulmuş) Reçineler Üzerinde Ayırma ve Zenginleştirme	14
2.2.7.4.1. Biyosorbsiyon	14
2.2.7.4.2. Biyosorbentler	15
2.3. Biyosorbsiyon işlemlerinde kullanılan mikroorganizmalar	15
2.3.1. Bakteriler	17
2.3.1.1. Termofilik Bakteriler	19
2.3.1.1.1. <i>Anoxybacillus</i> Cinsi	21

2.3.1.1.2. Beslenme ve Büyüme	21
2.4. Biyosorbsiyon ile İlgili Yapılan Çalışmalar	22
2.5. Amberlite XAD Türü Reçineler	23
2.5.1. XAD-4 Reçinesi	25
2.6. Atomik Absorbsiyon Spektrofotometreleri	26
2.6.1. Atomik Absorbsiyon Spektrometresi	27
2.6.1.1. Işık Kaynakları	27
2.6.1.1.1. Oyuk Katot Lambaları	27
2.6.1.1.2. Çok Elementli Lambalar	28
2.6.1.1.3 Elektrotsuz Boşalım Lambaları	28
2.6.1.1.4. Buhar Boşalım Lambaları	28
2.6.1.2. Atomlaştırıcılar	28
2.6.1.2.1. Alevli Atomlaştırıcılar	29
2.6.1.2.2. Alevsiz Atomlaştırıcılar	29
2.6.2. Monokromatör	30
2.6.3. Dedektör	31
2.6.4. Engellemeler	31
2.6.4.1. Kimyasal Engellemeler	31
2.6.4.2. Fiziksel Engellemeler	32
2.6.4.3. Spektral Engellemeler	32
2.6.4.4. Zemin Engellemeler	32
2.6.5. AAS'nin Analitik Performansı ile ilgili Terimler	33
2.6.5.1. Duyarlık	33
2.6.5.2. Doğruluk	33
2.6.5.3. Kesinlik	34
2.6.5.4. Gözlenebilme Sınırı (LOD)	34
2.6.5.5. Tayin Sınırı (LOQ)	34
2.6.6. Analitik Uygulamalar ve AAS ile Elementlerin Kantitatif Tayini	35
<b>3.MATERYAL VE METOD</b>	<b>37</b>
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	37
3.1.1. Alevli Atomik Absorbsiyon spektrometresi (FAAS99)	37
3.1.2. Perstaltik pompa	37
3.1.3. pH metre	37
3.1.4. Analitik Terazı	37
3.1.5. Mikropipet	37

3.1.6. Saf su cihazı	38
3.1.7. Etüv	38
3.1.8. Magnetik Karıştırıcı	38
3.2. Kullanılan Reaktifler ve Hazırlanışı	38
3.2.1. Tampon Çözeltiler	38
3.2.2. Elüent Çözeltiler	38
3.2.3. Ara Stok Çözeltisi	39
3.3. Model Çözelti ve Kolonun Hazırlanması	39
3.3.1. Mikroorganizma	40
3.3.1.1. Mikroorganizmanın Hazırlanışı	40
3.3.2. <i>Aaomybacillus kamchatkensis assaccharedens (KG8)</i> tutturulmuş Amberlit XAD-4 Hazırlanması	41
<b>4.BULGULAR</b>	43
4.1. pH Etkisi	43
4.2. Adsorban Miktarının Etkisi	44
4.3. Elüent Cinsi,Değişimi ve Hacminin Etkisi	44
4.4. Akış Hızının Etkisi	45
4.4.1. Elüent Akış Hızının Etkisi	46
4.4.2. Örnek Hacminin Etkisi	46
4.5. Yabancı İyonların Etkisi	47
4.6. Önderiştirme Faktörü	48
4.7. Adsorbanın Toplam Tutma Kapasitesi	49
<b>5.SONUÇ VE TARTIŞMA</b>	51
<b>6 KAYNAKLAR</b>	55

## ÖZET

*Anoxybacillus kamchatkensis subs. assaccharedens* (KG8) TUTTURULMUŞ  
AMBERLİT XAD-4 KULLANARAK KATI FAZ EKSTRAKSİYONU İLE Zn (II) VE  
Mn (II) İYONLARININ FAAS İLE TAYİNİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hüsniye ÇELEBİ

DİCLE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI

2013

Bu çalışmada yeni bir biyosorbent olan *Aanoxybacillus kamchatkensis assaccharedens* (KG8) tutturulmuş Amberlit XAD-4 kullanılarak kolon dolgu maddesi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu kolon dolgu maddesi ile matriks ortamında bulunan Zn (II) ve Mn (II) iyonlarının ayrılması ve önderiştirilmesi gerçekleştirilmiştir. Bu iyonlar Alevli Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi ile tayin edilmiştir. Model çözelti ortamında geliştirilen yöntem için pH, kolondaki akış hızı, elüent türü, derişimi ve hacmi, biyosorpsiyon kapasitesi, örnek çözelti hacmi, gibi parametreler incelenmiş ve optimum koşullar tespit edilmiştir.

Optimum örnek pH'sını belirlemek amacıyla gerekli tampon çözeltiler kullanılarak, model çözelti ortamı pH 2-10 aralığında ayarlanarak optimum pH değerleri hesaplandı. Zn (II) için pH; 6.0 ve Mn (II) için pH; 8,0 optimum değerleri bulundu. Geri kazanma veriminin, kolondan geçen numune çözeltisinin akış hızına ve tutunan iyonların elüe edilme hızına bağlı olması nedeniyle numune çözeltisinin akış hızının geri kazanma verimine etkisi de incelenmiştir. Eser elementlerin geri kazanma verimleri kantitatif olarak  $R > \%95$  olarak bulunmuştur.

Analiz edilecek element saf su içerisinde olduğundan Zn (II) ve Mn (II) iyonlarının geri kazanma değerine, matriks iyonlarının ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Cl}^-$  ve  $\text{NO}_3^{-1}$ ) etkisi incelendi.

Reçinenin adsorpsiyon kapasitesi Zn (II) ve Mn (II) için sırasıyla  $1480 \text{ mg g}^{-1}$  ve  $1890 \text{ mg g}^{-1}$  olarak bulundu.

**Anahtar Kelimeler:** *Aanoxybacillus kamchatkensis assaccharedens* (KG8) Amberlite XAD-4, Çinko (II), Mangan (II), FAAS.

## ABSTRACT

DETECTION of Zn (II) and Mn (II) IONS by FAAS THROUGH SOLID PHASE  
EXTRACTION USING *Anoxybacillus kamchatkensis asaccharedens* (KG8)  
ATTACHED AMBERLITE XAD-4

Hüsniye ÇELEBİ

DİCLE UNIVERSITY, INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES, A  
THESIS FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCES

2013

In this study, a column filling material (cement) was prepared using a new biosorbent *Anoxybacillus kamchatkensis asaccharedens* (KG8) attached amberlite XAD-4. The Zn (II) and Mn (II) ions in the matrix was preconcentrated and separated using this cement. These ions were detected Flame Atomic Absorption Spectroscopy (FAAS). Several parameters such as pH, flow rate in the column, the type of eluent, concentration and volume, the capacity of biosorption and sample solution volume were evaluated and optimum parameters were determined for a method which is developed in model solution.

In order to determine the optimum pH for sample solution, the pH of the model solution was adjusted between 2 and 10. Then the optimum pH level was calculated. Optimum values were found 6.0 for Zn (II) and 8.0 for Mn(II). The effect of the flow rate of sample solution to the recovery efficiency was examined because the recovery efficiency depends on the flow rate of sample solution through the column and elution rate of the adsorbed ions. The trace elements were quantitatively found as  $R > 95\%$ .

The effect of matrix ions ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Cl}^-$  and  $\text{NO}_3^{-1}$ ) to the recovery of Zn (II) and Mn (II) was evaluated as the analyzed element was in the pure water.

Adsorption capacity of the resin for Zn (II) and Mn (II) were found as  $1480 \text{ mg.g}^{-1}$  and  $1890 \text{ mg.g}^{-1}$ , respectively.

**Keywords:** *Anoxybacillus kamchatkensis asaccharedens* (KG8), Amberlite XAD-4, Zinc (II), Manganese(II) and FAAS.



## TABLÖLAR LİSTESİ

<b>Tablo 2.1.</b> Mikroorganizmaların minimal, optimal ve maksimal üreme sıcaklıklarına göre sınıflandırılması	20
<b>Tablo 2.2.</b> Çeşitli Amberlite XAD Reçinelerinin Spesifik Özellikleri	25
<b>Tablo 2.3.</b> Amberlite XAD 4 Reçinesinin Bazı Fiziksel Özellikleri	26
<b>Tablo 3.1.</b> Atomik çalışma koşulları	37
<b>Tablo 4.1.</b> Zn (II) ve Mn (II) iyonlarının Geri kazanımına elüent cinsi ve derişiminin etkisi	45
<b>Tablo 4.2.</b> Girişim yapabilecek bazı iyonların Çinko ve Mangannın geri kazanma verimine etkisi	48
<b>Tablo 4.3.</b> Önderiştirme Faktörleri	48
<b>Tablo 4.4.</b> Zn(II) ve Mn(II) iyonlarının tutma kapasite değerleri	49

## ŞEKİLLER LİSTESİ

<b>Şekil 2.1.</b> Katı Faz ekstraksiyonunun genel işlem basamakları	13
<b>Şekil 2.2.</b> Analitik amaçlar için biyosorbent olarak kullanılan mikroorganizmaların dağılımı	16
<b>Şekil.2.3.</b> Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Amberlite XAD-4 yüzey yapısı	25
<b>Şekil 2.4.</b> Amberlite XAD-4 'in kimyasal yapısı	26
<b>Şekil 2.5.</b> AAS 'nin bloka şeması	27
<b>Şekil 3.1.</b> KG8'in Mikroskopik Görüntüsü	40
<b>Şekil 4.1.</b> Zn (II) ve Mn (II) iyonlarının geri kazanılmasına pH'ın etkisi	43
<b>Şekil 4.2.</b> Zn (II) ve Mn (II) iyonlarının geri kazanma verimine adsorban miktarının etkisi	44
<b>Şekil 4.3.</b> Optimum pH'da Zn (II) ve Mn (II) iyonlarının % Geri kazanımına örnek akış hızının etkisi.	46
<b>Şekil 4.4.</b> Optimum pH'da Zn (II) ve Mn (II) iyonlarının geri kazanımına örnek hacminin etkisi	47

## 1.GİRİŞ

Çevre kirliliği bütün dünyada korkutucu boyutlara ulaşmış, hem insanların hem de diğer canlıların hayatını tehdit etmeye başlamıştır. Özellikle de sucul habitatların gittikçe kirlenmesi ve tükenmesi ekonomik, ekolojik ve sosyolojik bakımdan ciddi sorunların çıkmasına neden olmaktadır. Bunlar genel olarak, besin maddesi üretiminin azalması, sucul ekosistemlerde ekolojik dengenin bozulması, sosyal ve politik istikrarın sarsılması ve hastalıkların artması, olarak sıralanabilir (Çiçek ve Koparal 2001, Çepel 2003, Keleş ve Göl 2004).

Yeryüzünün bir bölümünü oluşturan su ortamı, kullanılmış sular ve diğer atıklar için alıcı bölge olduğundan, ekosistem içinde hava ve toprağa oranla daha yoğun kirlenmeye uğrayan kısımdır. Doğal dengeyi bozan kirlenici unsurlar; organik maddeler, ağır metaller, petrol türevleri, yapay tarımsal gübreler, deterjanlar, radyoaktivite, pestisitler, inorganik tuzlar, yapayorganik kimyasal maddeler ve atık ısı olarak sıralanabilir (Yarsan ve ark. 2000, Bat ve ark. 2006). Bu kirlenicilerden özellikle ağır metaller deşarj edildikleri ortamda uzun süre kalabilmeleri, sucul canlılarda toksik etkiler meydana getirmeleri ve besin zincirinde akümüle olarak insan sağlığını tehdit etmeleri nedeniyle büyük önem taşırlar (Papagiannis ve ark 2004; Canpolat, 2001). Normal koşullarda ağır metallerin doğadaki düzeyi düşüktür. Canlılarda enzimatik aktivite için bazı ağır metallerin gerekliliği sadece belli konsantrasyonlardadır. Ağır metallerden bazıları (Kadmiyum, kurşun, arsenik, civa v.s.) canlı dokularda çok düşük konsantrasyonlarda olsalar bile hayli yüksek toksik etkiler meydana getirirler. Bununla birlikte bazı metaller de (Bakır, çinko, demir v.s.) biyolojik öneme sahiptirler ve sucul ekosistemin tabii bileşenleridirler. Çok yüksek konsantrasyonlarda ancak toksik etki gösterirler (Amundsen ve ark. 1997).

Bir metal, bir biyolojik sisteme girdiği zaman, o canlının tüm dinamik yaşam proseslerine zarar verme kapasitesine sahiptir (Hu, 2000).Sucul ortamdaki derişimi artan ağır metaller suda yaşayan organizmalar tarafından alınarak besin zinciri aracılığı ile üst trofik düzeylere taşınmaktadır. Sucul organizmalarda ağır metal birikiminin incelenmesi, ağır metallere karşı duyarlılığı yüksek türlerin belirlenmesinin yanı sıra organizmada meydana gelen yapısal ve işlevsel bozuklukların belirlenmesi bakımından da önem taşımaktadır (Kayhan,2006).

## 1. GİRİŞ

---

Ortamdaki miktarları azaltılmadığı ya da yok edilemediği için sabit ve devamlı çevre kirleticileri olarak bilinen ağır metallerin derişimleri sürekli olarak artmaktadır. Ağır metallerin çevredeki kalıcılığı aynı zamanda termodinamiğin birinci kanununa tabidir. Yani enerji ya da madde yoktan var, vardan yok edilemez; ancak formu değişebilir. Sonuç olarak bunlar sucul ya da onu çevreleyen karasal ortamlardaki organizmalarda birikme eğilimi göstererek, besin zincirinin en tepesinde yer alan insanlara kadar ulaşır.

Dokularda metal birikimini belirleyen yöntemler doğru bir şekilde uygulandığında çok önemli avantajlar sağlar. Bunlar:

1- Dokudaki derişimler su ve çökeldeki derişimlere nazaran çevresel kirliliği daha iyi yansıtılabilir. Bu durum, organizmaların metalden etkilenme derecelerini anlamada önemli bir perspektiftir.

2- Organizmalarda bulunan kirletici derişimlerinin ölçümleri, bu kirleticilerin dokularda zamana bağlı birikimlerini ortaya koymaktadır. Suda ve çökelerde olabilen geçici değişkenlik ise, bazen kirliliğin tam olarak belirlenmesinde bir problem olabilir. Bununla beraber geçici değişkenliklerin tam anlamıyla açıklanabilmesi için, ortam ve organizma dokularındaki birikimler karşılaştırıldığında, organizmalar kirliliğin göstergeleri olarak kabul edilirler.

3- Canlılarda yapılan ölçümler su ve çökele kıyasla biriktirilebilir olan kirleticilerin miktarını daha net bir şekilde ortaya koyabilir (Türkmen, 2003).

Su örneklerinde eser elementlerin düşük derişimleri ve matriks etkisi nedeniyle, eser element analizinden önce genellikle bir ayırma-zenginleştirme işlemine başvurulur. Bu amaçla özütleme, birlikte çöktürme, iyon değiştirme ve adsorpsiyona dayanan ayırma-zenginleştirme yöntemleri sıkça kullanılmaktadır. Bugüne kadar su örneklerinin eser metal iyonu içeriklerinin tayininden önce, bu iyonların Amberlite XAD türü reçineler ile dolgulu mini kolonlarda adsorpsiyonu ve küçük hacimdeki uygun bir elüsyon çözeltisi ile bu iyonların kolondan geri kazanılmasını esas alan zenginleştirme yöntemleri başarıyla uygulanmıştır (Soylak ve Elçi 1997; Soylak ve ark. 1997; Narin ve ark. 2001; Narin ve ark. 2003; Narin ve ark. 2004).

Katı faz ekstraksiyonu (SPE), temel olarak küçük, tek kullanımlık ekstraksiyon kolon veya disklerine çeşitli tutucu maddelerin doldurulması ve sıvı örneklerini

istenmeyen bileşenlerden ayırma (temizleme), yoğunlaştırma ve ileriki analiz aşamaları için örnek matris yapısının değiştirilmesi amaçlarıyla hazırlanmış olan kolon ve disklerden geçirilmesi esasına dayanmaktadır (Kabas, 2007).

Tutucu madde (sorbent) olarak en çok kullanılan mineraller C8 veya C18 organik gruplarla zincirlenmiş silikalardır. Diğer taraftan SPE’de en çok kullanılan organik sorbentlerden biri gözenekli polistirendir (Bagheri ve Saraji, 2002). Amberlit XAD selatlanmış reçineler, naftalin içeren çeşitli katı faz ekstrantları çevresel örneklerden reçineleri, aktif karbon, iyon değiştirici reçineler, çeşitli polimerler, C60-70, silika jel, eser miktardaki ağır metal iyonlarının ön deriştirilmesi ve ayrılması için kullanılmıştır (Narin ve ark. 2000; Saraçoğlu ve Elçi, 2001; Tuzen ve ark. 2005).

Eser element tayinlerinde indüktif eşleşmeli plazma atomik emisyon (ICP-AES) ve kütle spektrometrisi (ICP-MS) kombinasyonları, izotop seyreltmeli kütle spektrometrisi (IDMS), nötron aktivasyon analizi (NAA), atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS) gibi birçok instrumental yöntem kullanılmaktadır (Narin İ. ve ark.2009).

Mikroorganizmaların biyosorbent olarak kullanılması son yıllarda geliştirilen bir yöntemdir. Mikroorganizmaların metaller için biyosorbent materyal olarak kullanılması geri kazanımının yüksek olması, ekonomik avantajları, basitliği ve çevreye zararlı olmaması nedeniyle diğer ön deriştirme metodlarına karşı yararlı bir alternatif olmuştur (Martinez ve ark. 2011, Baytak ve ark. 2005).

Yaşayan veya yaşamayan mikroorganizmalar seçici olarak atık sulardaki inorganik iyonları biriktirme ve ayırmada yüksek bir potansiyele sahiptir. Mikroorganizmaların üreme ve metali bağlamada ortam koşullarının aynı olmaması, ayrıca metal iyon derişimlerinin çok yüksek olduğu veya metal iyonlarının önemli miktarlarının mikroorganizma tarafından adsorbe edildiği zaman mikroorganizma üremesinin inhibe oluşu canlı sistemlerde çalışmada önemli kısıtlamalar getirmektedir. Bu sebeple yaşamayan mikroorganizmaların metal adsorpsiyonunda kullanımı düşünülmüş, yaşamayan biyokütlenin yaşayan hücrelerinden daha fazla miktarda metali adsorpladığı görülmüştür. Genel tanım olarak; bir çözeltiden biyokütle ile metalin uzaklaştırılması biyosorpsiyon olarak adlandırılır. Her ne kadar birbirlerinin yerine kullanılsalar da; biyoakümülyasyon, metallerin canlı mikrobiyal hücreler tarafından aktif

olarak tutulması veya hücre içinde biriktirilmesi olayı; biyosorpsiyon ise, aktif olmayan ya da ölü hücrelerle pasif olarak genellikle hücre yüzeyinde gerçekleşen metal tutumudur (Martinez, 2011).

Bu çalışmada, Amberlite XAD-4 reçinesine, KG8 bakterisi karıştırarak doyurma (İmpregnated) işlemi yapıldı. Elde edilen biyosorbent kolon dolgu maddesi olarak kullanılarak, sulu çözeltilerde eser düzeyde bulunan Zn ve Mn optimum şartlarda seçimli olarak ayrılıp geri alınmıştır. Kolonda tutulan metaller 1M HNO<sub>3</sub> çözeltisi ile elüe edilerek alevli absorpsiyon spektroskopisi (FAAS) ile tayin edilmiştir. Geliştirilen yöntemin optimizasyonu için pH etkisi, reçine miktarı, elüent cinsi ve derişimi, örnek ve elüent hacmi, örnek ve elüent akış hızının ve ortam bileşenlerinin geri kazanmaya etkisi incelendi. Geliştirilen yöntem optimum şartlarda nehir suyu ve toz örneklerine ve yöntemin doğruluğunu test etmek için sertifikalı referans maddeye uygulandı.

## 2.KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1.Ağır Metaller

Ağır metal; organizmanın sağlıklı büyümesi ve gelişmesi için gerekli olan ve miktarı organizmanın ağırlığının % 0,01'den az olan elemente denir. Diğer bir tanıma göre; özgül ağırlığı  $5 \text{ g/cm}^3$ ' den büyük ve atom numarası 22' den 92' ye kadar olan elementler ağır metal olarak tanımlanmaktadır (Çınar, 2008).

Ağır metaller, doğal sulara eser miktarda bulunurken insan faaliyetleri sonucu özellikle endüstriyel atık suların içme sularına karışması veya ağır metalle kirlenmiş partiküllerin atmosfere oradan toprak ve suya geçmesiyle sulardaki konsantrasyonları artmaktadır. Ağır metaller beslenme zinciri içerisinde üst seviyelere doğru birikme eğilimindedirler. Bu kirleticiler bazı toleranslı türler tarafından biriktirilerek giderek artan bir oranda besin zincirinin üst tabakalarına taşınarak canlılara ve özellikle insanlara zarar vermektedir (Türkoğlu, 2008).

Eser element terimi genellikle katılarda % 0,01'in altındaki derişimlerde, çözeltilerde ppm (mg/L) ve ppb ( $\mu\text{L}$ ) düzeyinde bulunan elementler için kullanılır. Katılarda  $\mu\text{g}$ , ppm; ng/g, ppb olarak verilir (Lemos ve ark. 2008).

#### 2.1.1.Çinko (Zn)

Çinko atom numarası 30, atom ağırlığı 65,37 gr/mol, yoğunluğu  $20^\circ\text{C}$ 'de  $7,11 \text{ gr/cm}^3$ , erime noktası  $420^\circ\text{C}$ , kaynama noktası  $970^\circ\text{C}$  olan ve 10 adet izotopu bulunan bir metaldir (Anonim, 2006b).

Çinko hava, su ve toprakta doğal olarak bulunan bir maddedir. Birçok yiyecek maddesi ve içecek su belirli konsantrasyonlarda çinko içermekte ve bu konsantrasyon insan faaliyetleri sonucu giderek artmaktadır (Çınar, 2008).

Çinko yüklemesi daha çok madencilik, kömür ve atık madde yakılması, demir-çelik işleme sanayiden kaynaklanmaktadır (Anonim, 2006b). Çinkonun kullanım alanları; metalik çinkonun % 50'sinden fazlası demir veya çeliği galvanizlemede kullanılmaktadır. Çinko oksit boya maddesi olarak plastiklerde, kozmetiklerde, fotokopi ve duvar kâğıtlarında ve yazıcı mürekkeplerinde, seramikler, kauçuk sanayi, gübreler, tıbbi ilaçlarda deri ve kas yaşlanmasını önlemek amacıyla da kullanılmaktadır (Çınar, 2008).

Çinko insanlar, bitkiler ve hayvanlar için önemli ve yaşamsal bir elementtir. Gelişme, deri bütünlüğü ve fonksiyonu, yumurta olgunlaşması, bağışıklık gücü, yara iyileşmesi ve karbonhidrat, yağ, protein, nükleik asit sentezi gibi önemli metabolik prosesler için gereklidir (Türkoğlu, 2008).

Çinko insan vücuduna yetersiz miktarda alındığı takdirde iştah kaybı, tat ve koku duyularında azalma, yara iyileşmesinde gecikme, bağışıklık sisteminde zayıflama, gençlerde büyüme sorunları, deri sorunları ve en önemlisi doğan bebeklerde doğum esnasında ve sonrasında sağlık sorunları meydana getirir. Çinkonun gerekenden fazla alınması durumunda iştah ve bağışıklık sistem aktivitesinin azalması, yaraların geç iyileşmesi, derideki aşırı hassasiyetler, kolesterolün yükselmesi, karın ağrısı, ishal, sindirimde sıkıntı gibi rahatsızlıklara neden olur (Kahvecioğlu ve ark. 2004; Çalışkan, 2005). Evlerde kullanılan çinko kaplardan ötürü klorür ya da sülfat halinde çinko yutulabilir; yutulan miktar 5-10 gr arasında olduğunda 10-12 saat içinde öldürücü bir etki yapar.

Çinko ayrıca kadmiyum gibi diğer tehlikeli ağır metallerin toksik etkisi ve alımında koruyucu ve engelleyici özelliği açısından oldukça önemlidir. Çinkonun balık bünyesine eksik alınması deri lezyonlarına, yemek borusu epitelyum hücrelerinde bozukluklara, iskelet anomalilerine, büyüme gerilemesi ve iştah kaybına neden olur (Kruger, 2002).

Çinkonun toksisitesi suyun kimyasal yapısı, suda bulunan diğer metaller ve yer kabuğunun alkalinitesinden etkilenir. Çinko ortamda çok fazla seviyelerde bulunduğu solungaç dokusunu tahrip ederek balığı öldürebilir. Genel olarak çinkonun su canlıları için zararları şöyle özetlenebilir (Kruger, 2002).

- Deri lezyonları, hemorajiler ve omur hasarlarına neden olur.
- Balıkta yumurta zarında incelmeye neden olarak yumurtlama esnasında yumurtanın yırtılmasına neden olur.
- Gonat faaliyetlerine engel olur.
- Embriyonik gelişimine zarar verir.
- Yumurtadan çıkan larvalar çinkoya maruz kaldıklarında kulak kapsülleri ve gözlerde şekil bozuklukları, ağız ve solungaç kemerlerinde sakatlıklara neden olur.



### 2.1.2. Mangan (Mn)

Mangan atom numarası 25 olan , periyodik cetvelde 7B grubunda yer alan bir elementtir. Mangan, yeryüzünde her yerde bulunabilen çok yaygın bir bileşendir (Anonim, 2009).

Yaşam için gerekli olup, tahıl ve çay gibi pek çok gıdalarda bulunan esansiyel bir iz elementtir. Demir-çelik fabrikaları, güç santralleri, yakma fırınları ve maden yataklarının tozlarından havaya karışabilir. Suya ve toprağa karışımı doğal kaynaklardan, atıkların deşarjıyla ve atmosferik taşınımına olur. Nehir, göl ve yer altı sularında doğal olarak bulunur ve sudaki bitkiler tarafından bir miktar alınarak birikebilir. Genellikle karaciğer, böbrek ve pankreasta birikim gösterir (Çalışkan, 2005). Mangan organizmalardaki enzimlerin yapısal bütünlüğü açısından gerekli bir elementtir. Bu elementin eksikliği insanlarda solunum, sinirsel bozukluklar ve kısırılığa neden olur (Tuncay, 2007).

### 2.2. Ayırma ve Zenginleştirme Yöntemleri

Eser element analizinde, analit elementi girişim yapan matriksten ayrılmak zorundadır. Analitik tekniğin iyi olmayan hassasiyetinden dolayı, numunedeki analit konsantrasyonunu arttırmak için uygun zenginleştirme metotları kullanılır. Zenginleştirme işlemi, analiz edilecek olan eser elementin örnekte bulunan miktarının daha yüksek konsantrasyonlara getirilmesidir. Bununla birlikte, her numune zenginleştirme basamağı potansiyel bir hata (kontaminasyon gibi) kaynağıdır. Ayrıca ayırma ve zenginleştirme basamakları zaman harcayan özelliktedirler. Bundan dolayı, eğer mümkünse bu basamaklardan kaçınılmalıdır. Atomik spektroskopi metotları için bazı elementlerin spesifik olmayan ayırımları genellikle yeterlidir. Eser düzeydeki elementlerin zenginleştirilmesinde ekstraksiyon, iyon değiştirme, adsorpsiyon, elektrolitik biriktirme, birlikte çöktürme ve uçurma ile zenginleştirme yöntemleri kullanılır ( Lajunen, 1992 ).

Eser element analizlerinde kullanılan ayırma ve zenginleştirme yöntemleri ile tayin yönteminde sağlanan gelişmeler şöyledir;

- 1- Eser element derişimi artırılarak yöntemin tayin kapasitesi artırılır.
- 2- Eser elementler uygun ortama alındığından, ortamdan gelebilecek girişimler giderilir. Böylece yöntemin duyarlılığı artar.

- 3- Büyük numune miktarları ile çalışılabildiğinden numunenin homojen olmayışından gelebilecek hatalar önlenir.
- 4- Ayırma işlemi ile eser elementler bilinen matriks içine alındığından, standartlar ile numune matriksini benzetmek kolaylaşır.
- 5- Bozucu etki gösteren matriks, uygun matriks ile yer değiştirdiği için zemin girişimleri azalır.
- 6- Seçimlilik artar.

Kompleks bir numunede bulunan elementin doğrudan tayini çoğunlukla zordur çünkü bir analitik metodun duyarlılığı veya seçiciliği yetersizdir. Çalışılan metalin derişimi ile karşılaştırıldığında matriks iyonlarının aşırısı ölçüm sırasında karışıklığa yol açar. Buda yanlış sonuçları ve kötü tespit edilme sınırını doğurur. Bu nedenle çoğu durumda analit matrikseten ayırarak seçiciliği artırmak ve analiti ön deriştirerek tespit edilme sınırını geliştirmek mümkündür (Tuzen ve ark. 2006; Erdoğan ve ark. 2007).

### **2.2.1.Ekstraksiyon ile Zenginleştirme**

Çözücü ekstaksiyonu ile eser elementlerin ayrılması ve zenginleştirilmesi basitliğinden, hızlılığından ve geniş kullanım alanından dolayı çok kullanılır. Birçok doğal numune (deniz suyu, sedimentler ve biyolojik numuneler), belirli bir oranda alkali ve toprak alkali metalleri içerirler ve bunların kesin bir şekilde eser elementlerde ayrılması istenilir. Bu durumlar altında, çözücü ekstraksiyonu yardımıyla matriks elementleri ile reaksiyon vermeyen uygun bir reaktif ile eser elementlerin ayrılması ve zenginleştirilmesi uygundur. Çözücü ekstraksiyonu iki tane birbiriyle karışmayan sıvıfazın dağılım ile ilgilidir. Bu fazlar da sulu ve organik çözücülerden oluşur.

Sulu fazdaki elementler organik faza çoğunlukla şelatları veya değişik iyon kompleksleri şeklinde geçirilir (Bakırcıoğlu, 2000).

Ekstraksiyon yöntemi eser analizde iki şekilde uygulanır. Birincisinde ana bileşenler ortamdaki uzaklaştırılırken, eser elementler fazda bırakılır. İkincisinde ise eser elementler şelatları halinde grup olarak ana bileşenden ayrılır ve organik faza alınır. Ekstraksiyonun eser analizdeki en yaygın uygulama şekli budur. İstenmeyen matriksin genel olarak ekstrakte edilmemesi ve dolayısıyla tayin elementinden ayrılarak girişimin engellenmesi önemli avantajdır.

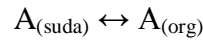
Bu yöntemin başlıca dezavantajı, kullanılan kimyasal maddenin fazla

olmasından dolayı (şelatlayıcı, organik sıvı, pH ayarlamak için kullanılan maddeler), kap değiştirmeler sırasında önlenemeyen kontaminasyon veya kayıplar gelmesidir (Zeev, 1994).

Bir çözünenin birbiri ile karışmayan iki çözücü arasında dağılımını ifade etmek için iki terim kullanılır: Dağılıma katsayısı ve dağılıma oranı. Bu iki terimin arasındaki farkın net bir şekilde bilinmesi gerekir (Fundamentals of Analytical Chemistry Douglas A.S )

### 2.2.1.1. Dağılıma Katsayısı

Dağılıma katsayısı, çözünen bir türün birbiri ile karışmayan iki çözücü arasındaki dağılımını ifade eden bir denge sabitidir. Örneğin organik bir çözünenin (A) sulu bir çözültisi, organik bir çözücü ile çalkalandığında aşağıdaki eşitlikte gösterilen bir denge kurulur:

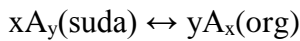


Burada (suda) ve (org) sulu ve organik fazı gösterir. İdeal olarak iki fazdaki A türünün oranı sabit olup A'nın toplam miktarından bağımsızdır. Yani herhangi bir sıcaklıkta şu ifade yazılabilir.

$$Kd = \frac{[A]_{org}}{[A]_{suda}}$$

Burada, denge sabiti Kd dağılıma katsayısı adını alır. Köşeli parantez içindeki terimler, gerçek iki çözültideki A türünün aktivitesidir, çoğu kez ciddi bir hataya sebep olmadığı için molar konsantrasyonlar da kullanılabilir. Kd, çoğunlukla A'nın iki çözültideki çözünürlüklerinin oranına yaklaşık olarak eşittir.

Çözünen tür iki çözücüde farklı şekilde bulunuyorsa, denge şu şekilde olur:



ve dağılıma katsayısı şöyledir:

$$Kd = \frac{[A_x]_{org}^y}{[A_y]_{suda}^x}$$

### 2.1.1.2. Dağılıma Oranı

Bir analitin dağılıma oranı D, analitin birbiri ile karışmayan iki çözücüdeki

analitik konsantrasyonunun oranı olarak tanımlanır. basit bir sistem için, dağılma oranı dağılma katsayısıyla aynıdır. Ancak, daha karmaşık sistemler için bu iki kavram birbirinden oldukça farklı olabilir. Bu yüzden bu iki terim arasındaki fark oldukça iyi bilinmelidir. Burada  $C_{org}$  ve  $C_{suda}$  HA'nın iki fazdaki molar konsantrasyonlarıdır.

$$D = \frac{C_{org}}{C_{suda}}$$

Dağılma Katsayısı, türün molar konsantrasyonlarının bir oranıdır. Dağılma oranı ise, analitik molar konsantrasyonların bir oranıdır.

Ekstraksiyon işleminde seçicilik, pH, sulu fazdaki yan tepkimeler, ligand, çözücü türü ve sıcaklık gibi değişkenlerden yararlanarak sağlanır.

### 2.2.2. Birlikte Çöktürme ile Zenginleştirme

Ayırma kimyasında, çöktürme işleminde diğer elementlerle bulaşma olması istenmeyen bir durumdur. Sonradan bu fenomenin önüne eser elementlerin etkili zenginleştirilmesi ile geçilmiştir. İlk olarak, 1951 yılında Banner ve Kahn birlikte çöktürme ile ilgili olarak araştırmalarını yayınladılar. Sonraki yıllarda, bu teknik değişik numune çeşitlerinde (doğal sular, yüksek saflıktaki materyaller) eser elementlerin ayrılması ve zenginleştirilmesi için geniş kullanım alanı bulmuştur.

Birlikte çöktürme yöntemi büyük yüzeyli çökelek oluşturarak eser elementlerin bu çökelek yüzeyinde adsorplanmasına dayanmaktadır. Genel olarak eser elementlerin çöktürülmesi yüksek konsantrasyonlar elde edebilen inorganik ve organik toplayıcılarla yapılır.

İnorganik çöktürücülerle, eser elementlerin çöktürülmesi, geniş yüzeye sahip çöktürücülerle olur.  $Al(OH)_3$ ,  $La(OH)_4$ ,  $Zr(OH)_4$ ,  $Mg(OH)_2$ ,  $Ni(OH)_2$  gibi.

Organik çöktürücüler eser elementlerin çözeltilerde  $1:10^{15}$  oranında dahi bulduklarında bile yüksek seçicilik ve verimliliğe sahip oldukları görülmüştür. Ayrıca organik bir çözücü ile kolay bir şekilde geri alınabilirler (APDC, DDTC, ditizon gibi).

Birlikte çöktürme tekniğinin yavaş ve zahmetli olması, her basamağın kontaminasyonu artırma ihtimali, çökeleğin parçalanmaması durumunda kimyasal girişim ve zemin absorpsiyonu sorununun bulunması dezavantajlarındandır (Zeev, 1994).

### 2.2.3. Elektrolitik Zenginleştirme

Eser miktardaki ağır metallerin çeşitli çözeltilerden ayrılmasında elektroliz yöntemi kullanılır. Eser elementlerin zenginleştirilmesinde çok kullanılan potansiyel kontrollü elektrolizin yanı sıra sıyırma yöntemleri (Anodik sıyırma voltametri gibi) de yaygın olarak kullanılır. Bu elementin elektrolitik olarak biriktirilmesi, büyük ölçüde elektrolit ve numunenin bileşimine, elektrot türüne ve şekline, elektroliz hücresine ve diğer deneysel değişkenlere bağlıdır (Eşer, 2012).

### 2.2.4. İyon Değiştirme

1950' lerden bu yana iyon değiştirmenin teori ve uygulamaları hızlı bir şekilde gelişmiştir. Fakat çözücü ekstraksiyonu gibi diğer ayırma ve zenginleştirme işlemleri daha hızlı bir gelişme sağlamışlardır. Fakat 1970' lere gelindiğinde katyon ve anyonların daha seçici ve hızlı analizi için iyon değiştirme kromatografisi adıyla yeni bir kavram sistem tanıtıldı (Zeev, 1994).

İyon değiştirme yöntemi ile büyük hacimli çözeltiler küçük bir kolondan geçirilirken, eser elementlerin seçimli olarak alıkonması sağlanır. Alıkonan elementler, küçük hacimli bir elüent ile alınarak zenginleştirilir.

İyon değiştiriciler genel olarak toz halinde, gözenekli, çözünür olmayan polimerik bileşiklerdir. Sağlam bağlı organik fonksiyonel grup içerirler. Bu fonksiyonel gruplara bağlı iyonlar çözeltideki iyonlarla yer değiştirirler.

İyon değiştiriciler genelde katı-iyon değiştiricileri ifade etmektedir. Proteinler, yapay reçineler, selüloz, karbon, silikat mineralleri, pamuk ve bazı toprak türleri gibi pek çok doğal ve yapay madde iyon değiştirici özelliğe sahiptir. İyi bir iyon değiştiricinin yüksek bir değiştirme kapasitesi, kolay ve ucuz elde edilebilir, çözeltilere karşı dayanıklı olması lazımdır.

İyon değiştirme yöntemi statik (batch) ve dinamik (kolon) olarak uygulanabilir. Eser elementlerin statik ve dinamik metotla zenginleştirilmesi için iyon değiştirici reçineler kullanılır. Batch metodunda belirli bir miktar çözeltiliye, belli bir miktar iyon değiştirici reçine ilave edilerek karışım, tayin elementinin reçineye bağlanmasına kadar çalkalanır. Kolon metodunda ise örnek çözelti reçine doldurulmuş kolondan geçirilir. Kolondaki reçine tarafından tutulan iyonlar, küçük hacimde uygun bir elüent ile geri

alınır (Bakırcıoğlu, 2000).

### **2.2.5. Uçurma ile Zenginleştirme**

Tayin edilecek element uçucu olmadığı takdirde buharlaştırılması mümkündür. Genel olarak tayin edilmek istenen elementler veya matriksler seçimli olarak buharlaştırılır. Buharlaştırma ile ayırmada matriks ile eser element arasında uçuculuk farkının büyük olması gerekir. Eser element analizinde örnek buharlaştırılır, matriks elementlerde hava kabarcıkları yardımıyla, ısıtma ile ve kimyasal reaksiyonlarla çözeltide kalır. Buharlaşılan bileşikler de analiz için uygun bir çözeltide absorplanır.

Bu yöntemin bazı dezavantajları kullanımını sınırlar. Bunlar; bazı elementlerin bileşikleri halinde zenginleştirme sırasında buharlaşıp kaybolması, işlemin yavaş olması, tayin yapılan kabın dibinde geniş yüzeyli tortular oluşmasıdır.

### **2.2.6. Adsorpsiyon ile Zenginleştirme**

Bir katının ya da sıvının sınır yüzeyindeki derişim değişmesi olayına adsorpsiyon denir. Bu olay gaz sıvı ya da herhangi bir çözeltiden çözüneneye ait moleküle veya iyonların katı bir madde yüzeyinde tutunarak birikmesiyle ortaya çıkar. Derişimin artışı durumuna pozitif adsorpsiyon, azalışı durumuna da negatif adsorpsiyon denir.

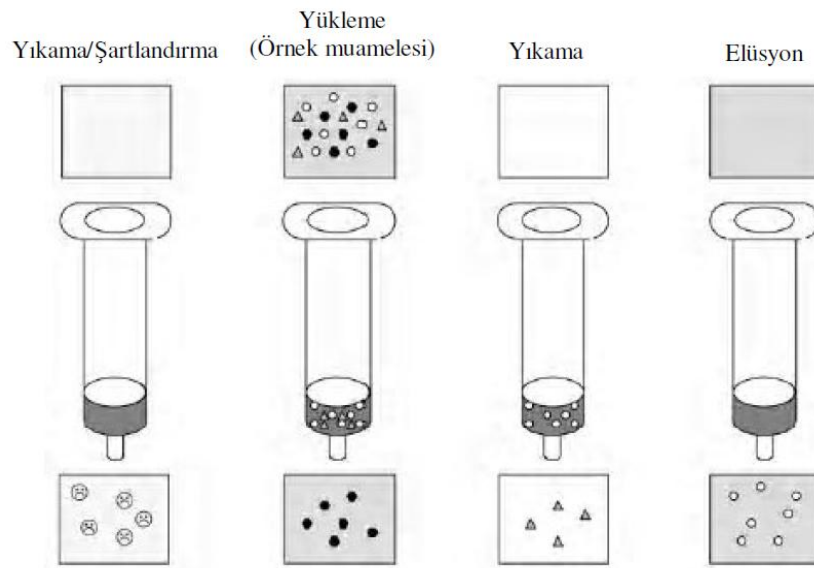
Adsorpsiyon olayını etkileyen faktörlerin başında adsorban maddelerin fiziksel ve kimyasal özellikleri gelir. Katılar, metaller ve plastikler az veya çok adsorplama gücüne sahiptirler. Adsorplama gücü yüksek olan bazı doğal katılar, kömürler, killer, zeolitler ve çeşitli metal filizleri yapay katılar ise aktif kömürler, silikajeller ve özel polimerlerdir (Santos, 2005). Adsorplama gücü yüksek olan katılarda adsorplanan madde miktarı yüzey büyüklüğü ve gözenekli yapıya bağlı olarak değişir.

### **2.2.7. Kolon Kromatografisi ile Eser Element Zenginleştirme Teknikleri**

Kromatografi, bilimin tüm dallarında uygulaması bulunan güçlü bir ayırma yöntemidir. Kromatografik yöntemler iki şekilde sınıflandırılabilir. Birincisinde, hareketli ve durgun fazların fiziksel olarak nasıl temas ettirildikleri esas alınır. Kolon kromatografide, durgun faz ince bir kolonda tutulur ve hareketli faz basınç altında bu durgun faz arasından geçmeye zorlanır.

Kolon kromatografisi ile eser elementlerin zenginleştirilmesi uzun süredir kullanılan yöntemlerdendir. Yöntemin temeli kısaca şu şekildedir; bir kolona

yerleştirilmiş ve pH gibi ortam şartları ayarlanmış katı faz üzerinden belli akış hızında geçirilen örnekte bulunan analit ve matriks bileşenleri, analitin kolonda tutunup matriks iyonu ya da moleküllerinin tutunmaması ile birbirinden ayrılmış olur. Kolonda kalabilecek matriks bileşenleri, kolonun yıkanmasıyla uzaklaştırılır. Analit ise belli hacimde elüent çözeltisi (genellikle seyreltik asitlerin sulu veya organik çözücülü çözeltileri) kullanılarak bir kaba elüe edilir. Elüat (elüe edilmiş analit çözeltisi) hacmi örnek hacminden az ise bu durumda zenginleştirme de yapılmış olur. Bu işlemler kısaca şekil 2.1’ de gösterildiği gibi yapılır (Tufekci ve ark. 2009).



Şekil 2.1. Katı Faz Ekstraksiyonunun Genel İşlem Basamakları

Uygulama teknikleri açısından katı faz ekstraksiyonu dört ana grupta toplanabilir.

### 2.2.7.1. Modifiye Edilmemiş Reçineler Üzerinde Ayırma ve Zenginleştirme

Bu yöntemde reçine herhangi bir modifikasyona tabi tutulmadan reçine üzerindeki fonksiyonel gruplar ya da adsorban özelliği kullanılarak ayırma işlemi gerçekleştirilir. Kullanılan katı adsorban doğal olabileceği gibi yapay da olabilir.

### 2.2.7.2. İmmobilize (Kimyasal bağlı) Reçineler Üzerinde Ayırma ve Zenginleştirme

Ligandın reçine üzerine kimyasal reaksiyonlar sonucunda kimyasal bağlar ile bağlanması işlemleri genel olarak immobilizasyon olarak adlandırılmaktadır. Ligand

immobilize reçineler için birçok kombinasyonlar söz konusudur. Ancak sentezlerinin zorluğu önemli bir problemdir. Amberlite XAD reçinelerinden de immobilisasyon ile yeni şelat reçineleri elde edilmektedir.

### **2.2.7.3. İmprinted (Baskılı) Reçineler Üzerinde Ayırma ve Zenginleştirme**

Bu yöntemde ise polimerizasyona uğrayacak monomerler herhangi bir ağır metalle şelat kompleksi oluşturduktan sonra polimerleşerek katı adsorbanı oluşturur. Bu adsorban uygun bir elüentle işleme sokularak üzerindeki ağır metal elüe edilir. Böylece adsorban üzerinde o ağır metale ait boşluklar oluşturularak katı fazın belirli bir ağır metal için spesifik olması sağlanır. Diğer reçinelere göre matrix etkisi daha az görülür

### **2.2.7.4. İmpregnated (Doyurulmuş) Reçineler Üzerinde Ayırma ve Zenginleştirme**

Ligand çözeltisinin emdirilmesi reaktifin reçine dolgulu bir kolondan geçirilmesi ya da adsorbanın reaktif çözeltisi ile uygun bir kaptaki belli süre çalkalanması ile olur. Bu yöntemde Ligand kimyasal olarak kararlı olmalı, sulu çözeltideki çözünürlükleri yeterince düşük ve reçine üzerindeki adsorpsiyonları kuvvetli olmalı ve de bir çok metal iyonu ile örnek çözeltisinin doğal pH'ında kararlı kompleks oluşturmalıdır.

#### **2.2.7.4.1. Biyosorbisyon**

Biyosorbisyon genellikle ağır metallerin sulu çözeltiden bir biyokütleyle pasif bağlanmaları yoluyla uzaklaştırılmasını anlatan bir terimdir. Biyosorbisyon katı faz ekstraksiyon metodları için ilgi çekici bir araç olmuştur. Bakteri, maya, alg ve mantar biyosorbisyon işlemlerinde adsorbent olarak immobilize edilen ve kullanılan mikroorganizmalardır. Biyosorbisyon için mikroorganizmaların yüzeyindeki değişik fonksiyonel gruplar (karboksil, hidroksil, sülfat, fosfat ve amino grupları gibi) sorumludur. Bu amaçla katı faz ekstraksiyon'lar sistemlerinde kullanılmak üzere çeşitli biyomoleküller katı destekler üzerine immobilize edilmiştir. Bunlar arasında en çok kullanılanları aminoasit ve peptitlerdir. Bu biyomoleküller -N, -S ve -O içeren gruplara sahip olduğundan değişik element türlerini seçici bir şekilde tutar. Katı destekler üzerine immobilizasyon yaklaşımında kolon doldurma olanağı sunar ve bu koşullar altında belirli bir analit varlığında amino asitler spesifik bir bağlanma yeteneği kazanırlar. Katı desteklerin spesifik yüzey alanlarının yüksek olması immobilize moleküllerin sayısını artırdığından metal tutma oranını artırır ve tekrar kullanılabilmesini sağlar (Martinez ve



ark. 2011; Akman ve ark. 2011).

Son yıllarda mikroorganizmalar, ağır metallerin ayrılmasında, zenginleştirme ve türleme çalışmalarında ve bunların toksikliğinin tespitinde kullanılmaktadır. Biyosorbsiyonda canlı ve ölü mikroorganizmalar kullanılabilir. Biyosorbsiyonun mekanizması mikroorganizmaya ve metalin türüne bağlıdır. En önemli mekanizma ise hücre duvarındaki kimyasal fonksiyonel gruplar ile metallerin tutulmasıdır. Diğer biyolojik mekanizma ise metilasyon, demetilasyon ve indirgemedir. Bu amaçla katı faz ekstraksiyon sistemlerinde kullanılmak üzere çeşitli biyomoleküller katı destekler üzerine immobilize edilmiştir. Bunlar arasında en çok kullanılanları aminoasit ve peptitlerdir.

Biyosorbsiyonun mekanizması oldukça karmaşık ve henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Organizmanın canlı veya ölü olmasına, organizma türüne ve metal türüne bağlıdır.

#### **2.2.7.4.2. Biyosorbentler**

Biyosorbentler geleneksel metodlara alternatif olarak kullanılmaktadır. Biyosorbent terimi canlı bitki ve mikroorganizma gibi canlıları kapsadığı gibi ölü biyokütleleri de (lif, bataklık kömürü, mikroorganizma vs.) içine alır.

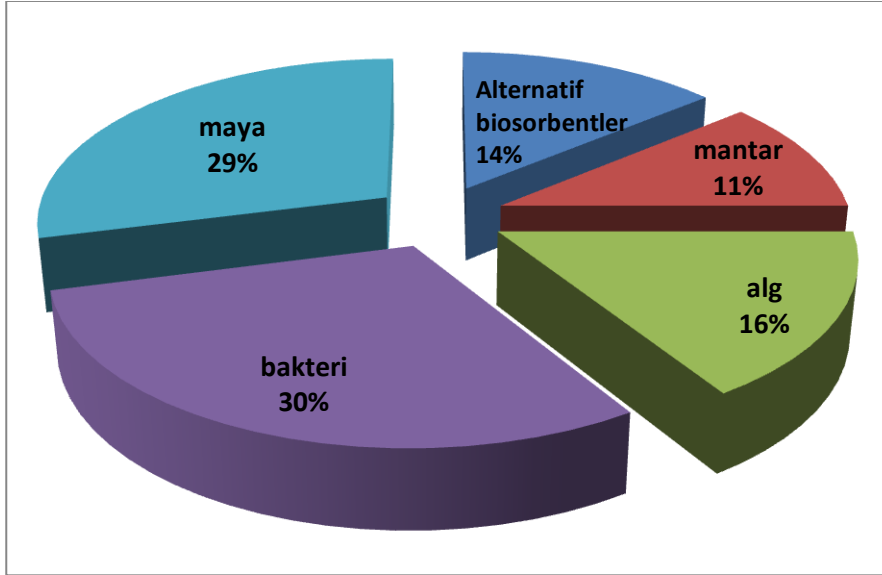
Mikrobiyal hücreler (canlı ya da ölü) ve onun ürünleri, metalin hem çözünen hem de katı hali için etkin bir biyoakümülatördür. Yüksek metal bağlayan yeni biyokütle çeşitlerinin keşfedilmesi, metal biyosorpsiyonunda düşük maliyet ve yüksek verimliliğe sahip biyosorbent ürünlerinin potansiyel olarak tanıtılmasına olanak sağlamıştır.

Metal biyosorbsiyonda kullanılan organizmaların yüzey alanı büyük ve negatif yüklü olmalıdır. Biyolojik moleküllerle yapılan ileri metal biyosorpsiyon çalışmalarında tutuklanmış hücre tekniklerinin (alg, maya, bakteri ve mantar immobilizasyonu) metal bağlama ve metal uzaklaştırılmasında serbest moleküllere kıyasla daha etkin oldukları gözlenmiştir. Bu mikroorganizmalar ucuz polimerik desteklere tutuklanarak metal biyosorbsiyonunda kullanılabilir.

### **2.3. Biyosorbsiyon işlemlerinde kullanılan mikroorganizmalar**

Biyosorbsiyon işlemlerinde değişik mikroorganizmalar kullanılmıştır. Şekil.2.2

çalışılan periyotta en çok kullanılan adsorbentlerin şeklini göstermektedir. Maya özellikle de *Saccharomyces cerevisiae*, bu grubun temsilli mikroorganizmasıdır. Mayaları, bakteriler ve alg'ler takip etmektedir. Deniz yosunu ve mantar gibi mikroorganizmalarda çalışılmıştır ama yaygın değildir (Shi ve ark. 2006; Martinez ve ark. 2011).



**Şekil 2.2.** Analitik amaçlar için biosorbent olarak kullanılan mikroorganizmaların dağılımı.

Bakterilerin karmaşık bir membranları vardır. Bu membran en iyi ekstraksiyon koşullarını taklit ederek seçici bir ekstraktant olarak davranır. Ev sahibi (host) hücrenin hücre duvarı yapısal olarak değişik proteinlere sahiptir ve gram negatif bakterilerden gram pozitif bakterilere doğru gidildikçe önemli değişiklikler gösterir.

Biyosorpsiyonda canlı ve ölü bakteriler kullanılabilir. Biyosorpsiyonun mekanizması mikroorganizmaya ve metalin türüne bağlıdır. En önemli mekanizma ise hücre duvarında bulunan kimyasal fonksiyonel gruplar (karboksil, hidroksil, amino, sülfat ve fosfat gibi) ile metallerin tutulmasıdır. Canlı ve cansız bakteri hücrelerinin türlendirme amacıyla katı faz ekstraksiyonunun birçok çalışmada kullanılmıştır. Canlı bakteri kullanılmasının bazı avantajları vardır.

- 1-Ekstraktant miktarı minimuma iner
- 2- Analit türleri ile hücre duvarı proteinleri arasındaki spesifik etkileşimler yoluyla seçicilik kontrol edilir.

- 3- Atık oluşmaz
- 4- Genellikle ucuz bir işlemdir.

Ancak canlı bakteriler her işlemde sadece bir kez kullanılabilirler. Bakteri hücrelerini kullanılırken çok özen gösterilmelidir. Ayırma işleminin tüm basamaklarında sterilizasyon gereklidir. Alternatif olarak ölü bakteri hücreleri kullanılarak yapılan ayırma işlemlerinde immobilize hücrelerin kolon dolgu maddesi olarak kullanıldığı sürekli akış sistemleri kullanılabilir. Bu işlemde değerlendirmesi gereken değişkenler hücre kültürü ile yapılan optimizasyon çalışmalarında oldukça farklıdır (sıcaklık, biyokütle miktarı, kültür zamanı vb.). Immobilize bakteri hücrelerini kullanırken temas süresi (çözeltilerin akış hızı) ve çözeltinin pH'na özellikle önem gösterilmelidir. Katı destekler üzerine immobilize (tutunan) edilen bakteri hücrelerini kullanmamızın açık bir avantajı bu hücrelerin tekrar kullanılabilmesidir. Diğer avantaj geniş yüzey alan oluşturmaktır. Birçok çalışmada katı destekler üzerine immobilize edilmiş bakteri hücreleri kullanılmıştır. Kullanılan sistemlerin çoğu metal ayırması ve bazı organometalik bileşikleri ayırmak amacıyla kullanılmıştır. Analiz edilen numuneler çoğunlukla çevre numunesidir. Ancak gıda ve biyolojik numunelerde değişik amaçlarla kullanılmıştır (Gök ve ark. 2008; Martinez ve ark. 2011; Lale ve ark 2000; Soylak ve ark. 2006).

### 2.3.1. Bakteriler

Gezegemimiz üzerindeki mikrobiyal hayat, yüksek yapılı organizmaların var olmasından yaklaşık olarak 3–3,7 milyon yıl önce oluşmuştur Mikroorganizmalar biyosferin yaygın ve önemli bir kısmını oluşturmasına rağmen, besin üretiminde kullanılanlar ve hastalık yapanların dışında büyük bir çoğunluğu tanımlanamamıştır. (Akkaya ve Kıvanç, 2008)

Bakteriler, en basit yapıdaki mikroorganizma grubudur. Doğada hemen hemen her yerde bulunurlar. Organik maddeleri biyolojik ayrıştırma ile daha küçük organik maddelere ve mineral maddelere ayırmaları nedeniyle ekolojik döngülerde ve doğal denge üzerinde önemli işlevleri vardır. Atık sularda ve atık suların tasfiyesi işlemlerinde rol alan organizmaların en önemli grubunu oluştururlar. Birçok katı ve sıvı atığın arıtılmasında önemli görevler alırlar.

Bakteriler, hücrelerinde belirli bir çekirdeği olmayan, yüksek bitkilere yeşil

rengini veren klorofilden mahrum bulunan ve bölünmek suretiyle çoğalan tek hücreli bitkiler olarak tarif edilir. Çok hızlı olarak çoğalabilen bakterilerin boyutlarının son derecede küçük, yüzey alanlarının ise muazzam derecede büyük olması, kendilerine, yaşadıkları ortamı süratle değiştirebilme imkânını verir. Tek başlarına veya gruplar halinde yaşayabilirler. Bazı bakteriler, kapsül denilen jelâtime benzer bir madde ifraz ederler. Bunlar birbiri ile birleşince, aktifleştirilmiş çamur yumaklarında ve damlatmalı filtre yataklarındaki biyofilm içinde bulunan canlı topluluklarını meydana getirirler.

Bakterileri birbirinden ayıran ve isimlendirmede çok kullanılan bir özellik bakterilerin şeklidir. Şekil bakımından bakteriler dört gruba ayrılır.

1. Küre şeklinde olanlar (*Coccus, Kok*)
2. Çubuk şeklinde olanlar (*Basil, Basillus*)
3. Kıvrık şekilli bakteriler. Kıvrık şekilli bakteriler iki alt gruba ayrılır. Bunlar;
  - a) Heliks şeklinde olanlar
  - b) Kısa virgül şeklinde olanlar
4. Dallanmış bakteriler

Bakteriler 0,3 ile 25 mikron arasında değişen büyüklükte olabilirler. Işık mikroskobu ile küçük olarak görülürler. Diğer mikroorganizmalar (mantarlar ve protozoalar) bunların yanında dev mikroorganizmalar olarak kabul edilebilir.

Bakteriler doğada su bulunan hemen hemen her yerde ve sıcaklıkta gelişirler. Hava, su ve toprakta bol miktarda bulunurlar. Bir kısmı patojen olduğundan içme ve kullanma sularında bulunmaları istenmez. Fakat çeşitli yollardan içme suyuna karışmakta ve zaman zaman salgın hastalıklara neden olmaktadır. Sulara karışan bakterilerin hepsi patojen değildir.

Bakteriler menşey olarak üç gruba ayrılırlar. 1-Doğal su bakterileri 2-Toprak bakterileri 3-Bağırsak ve kanalizasyon bakterileri.

Bakteriler en iyi fonksiyon yapabilecekleri sıcaklık bölgelerine göre üç gruba ayrılırlar.

*Kryofilik bakteriler* 12-18 °C

*Mezofilik bakteriler* 25-40 °C

### *Termofilik bakteriler 55-65 °C*

pH bakterilerin gelişmesi üzerine tesir eden en önemli çevre faktörlerinden biridir. Organizmaların çoğu 9,5'dan büyük veya 4,0'dan küçük pH değerlerine tahammül edemezler. Genel olarak optimum pH değeri 6,5 ile 7,5 arasında bulunur.

Bakteriler, metabolik faaliyetlerine göre *ototrofik* veya *hetotrofik* olarak sınıflandırılırlar.

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında, bakterilerin morfolojik özelliklerinin incelenebilmesi amacıyla, fiske edilerek boyanmış preparatlar çok sık kullanılmaktadır. Fiksasyon işlemi sırasında mikroorganizmalar canlılıklarını ve hareket yeteneklerini yitirirler ve boyanarak zeminle kontrast oluştururlar (Çevre analizlaboratuvarı deney notları, 2007).

#### **2.3.1.1. Termofilik Bakteriler**

Bakteriyolojinin hemen hemen ilk dönemlerinde, termofilik bakterilerin varlığı biliniyordu. Yaşam koşullarımızdan oldukça farklı şartlarda yaşayan ekstrem canlı gruplarından biri olan termofilik bakteriler son yıllarda yoğun ilgi duyulan araştırma odaklarından biri olmuştur. Pek çok canlı grubunun yaşayabilmesinin imkânsız olduğu sıcaklıklarda bile enzimlerini kullanabilmeleri ve yaşamlarını sürdürebilmeleri, araştırmacıları bu konuda çalışmalar yapmaya yöneltmiştir. Termofilik bakteriler ilk kez 1879 yılında Miquel tarafından 72 °C 'de çoğalabilen bakteriler olarak izole edildi. *Thermus aquaticus* ilk karakterize edilen hiper termofilik bakteridir (Brock, 2001). Miquel bu bakterileri nehir, çamur, toprak, toz ve kanalizasyon numunelerinden elde etmiştir (Jenkins, 1999). Dünyamızda solfatarik alanlar, hidrotermal kuyular, sıcak su kaynakları gibi çeşitli jeotermal alanlardan aerobik termofillerin izolasyonları yapılmaktadır (Baker ve ark.2001).

Bu organizmalar yüksek sıcaklıklarda yaşamaya adapte olmuşlardır. Bunlar kendi aralarında ılımlı termofiller (45-65 °C), hipertermofiller (85 °C), mezofiller (35-50 °C) şeklinde ayrılırlar (Tablo 2.1) (Demirjian ve ark.2001).

Ekstrem şartlarda yaşamak ve çoğalmak için organizmalar metabolik ve diğer hücresel fonksiyonlarını bu ortamlara adapte etmek zorundadır. Termofillerin hücre membranı doymuş yağ asitlerinden yapıldır. Bu yağ asitleri hücreye hidrofobik bir

## 2.KAYNAK ÖZETLERİ

ortam sağlar ve yüksek sıcaklıkta yaşaması için hücreyi yeterince sıkı ve sert tutar. Termofilik organizmaların hücresel elemanları (hücre membranı) ve bileşenleri (enzimler, proteinler, nükleik asitler vb.) yüksek sıcaklığa dayanıklıdır (65-85 °C). Ayrıca ekstrem derecede asidik ve alkali şartlar gibi denatüranlara ve de proteolize dayanıklıdır (Kristjansson ve Asgerisson, 2002; Haki ve Rakshit, 2003).

Termofillerin DNA'sı, DNA'da pozitif süper sarmallar oluşturan geri dönüşümü (reversible) sağlayan bir DNA Giraz ihtiva eder. Bu da DNA'nın erime noktasını en azından organizmanın maksimum büyüme sıcaklığına kadar yükseltir. Termofiller ayrıca non-termotolerant organizmaların kullandığı elektrostatik disülfid köprüsü ve hidrofobik etkileşimler gibi artan etkileşimleri kullanarak yüksek sıcaklıklara tolerans göstermektedirler (Haki ve Rakshit, 2003; Fujiwara, 2002).

Yüksek sıcaklıklarda polimerik substratların çözünürlüklerinin artması ve istenmeyen komplikasyonlara yol açan kontaminasyon riskinin yüksek sıcaklıklarda azalması gibi nedenler biyoteknolojide ve endüstride termofilik organizmaların kullanımını arttırmıştır (Gül-Güven, 2004).

**Tablo 2.1.** Mikroorganizmaların minimal, optimal ve maksimal üreme sıcaklıklarına göre sınıflandırılması (Arda, 2000 ).

Mikroorganizma	Minimum °C	Optimum °C	Maksimum °C
Psikrofiller	-5- 5	15-30	19-35
Mezofiller	10-15	30-45	35-47
Fakültatif Termofiller	37	45-55	70
Zorunlu Termofiller	40-45	55-75	60-80
Ekstrem Termofiller	60	75-80	85-110

Yapılan pek çok çalışmada sıcaklığın mikroorganizmaların fizyolojik aktiviteleri ve gelişimleri üzerindeki en önemli faktörlerden biri olduğu, yüksek sıcaklığın farklı mikroorganizmalar tarafından farklı düzeyde tolere edildiği tespit edilmiş; pek çok ökaryotik canlı kısa bir süre bile 50 °C sıcaklığa dayanamazken bazı mikroorganizmaların oldukça yüksek sıcaklıklarda yaşayabildiği bildirilmiştir (Williams ve ark. 1995). Ekstrem termofiller içinde yüksek sıcaklıkta yaşayanlar

termostabil biyokatalizörlerinden dolayı çok ilgi çekmektedir. Birçok ekstremofil mikroorganizma, *Archaea* grubu içinde yer almaktadır. Bunların diğer bir grubu ise optimum 75 °C' de yaşayan ekstrem termofillerdir (Madigan ve ark. 2000).

Termofilik basiller genellikle sıcak su kaynakları, solfatarlar ve jeotermal olarak ısınmış topraklardan izole edilirler. Termofil olmalarına rağmen mezofil çevrelerde de bulunabilirler. Bu çevrelerin yanı sıra topraktan, gübreden, lağım arıtma sistemlerinden, nehir ve göllerden, hava kontaminantlarından ve konservelerden de izole edilebilirler (Kristjonsson ve Stetter, 1991).

#### 2.3.1.1.1. *Anoxybacillus* Cinsi

Bu cins ilk kez 2000 yılında Pikuta ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. *A. pushchinoensis* DSM12423T cinsin ilk tanımlanan türüdür. *Anoxybacillus* cinsi üyeleri daha önce *Bacillus* cinsi içerisinde yer almaktaydı. Ancak *Anoxybacillus* aerobik endospor oluşturan birbakteri olduğundan *Bacillus*'tan farklı bir cins olarak tanımlanmıştır. Cins, *A. gonensis*, *A. flavithermus*, *A. contaminans*, *A. voinovskiensis*, *A. ayderensis*, *A. kestanbolensis*, *A. pushchinoensis* adında yedi tür içermektedir (Poli ve ark. 2006) Tanımlanan tüm *Anoxybacillus* türleri genellikle termofilik, Gram-pozitif, spor oluşturan basil şekilli bakterilerdir (Gül-Güven, 2007 ).

#### 2.3.1.1.2. *Beslenme ve Büyüme*

Heteretrofik, termofilik *Bacillus* türlerinin hepsinin nutrient agar ve tripton soya agar üzerinde heterotrofik olarak büyüdükleri bildirilmektedir. *Bacillus* türlerinin büyüme gereksinimleri üzerine yapılan bir çalışmada, *Bacillus stearothermophilus* kullanılmış ve karbon kaynağı olarak glikoz ya da sakaroz ihtiyacı duyduğu, tiamin, biotin, nikotinik asit, arjinin, histidin ve izolösinin ise büyümeyi arttırdığı bildirilmiştir. termofilik basil üzerinde yapılan bir çalışmada termofil basillerin vitamin ve kofaktörlere ihtiyacı gösterdiği saptanmıştır. *B. coagulans*'ın 26 suşu üzerinde yapılan bir çalışmada ise bu türün üyelerinin metionin ve glutamik asit için oksotrofik olduğu tespit edilmiştir (Kristjonsson ve Stetter, 1991;Edwards, 1990).

Termofilik *Bacillus* türlerinin karbonhidrat, şeker, alkol, organik asitler, polisakkaritler, protein ve protein hidrolizatları ve lipitleri büyümek için kaynak olarak kullandıkları saptanmıştır. İzole edilen suşların alkoller, metanol, etanol, ksilol, fenol ve kresolü hidrolize ettiği ve bu özelliklerin sınıflandırmada kullanıldığı bildirilmiştir

(Nazina ve ark.2001; Sellmann ve ark.1992).

### 2.4. Biyosorbsiyon ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Türker ve arkadaşları (2006) Cu, Zn, Fe, Ni ve Cd sepiyolit içeren bir sütun üzerinde *E-coli* immobilize edip alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile tayin için yöntem geliştirmişlerdir. Optimum pH değerleri, adsorban, elüsyon, akış hızı ve miktarı çalışılan elementler için elde edilmiştir. Immobilize *E-coli* adsorpsiyon kapasitesi sırasıyla 0,148, 0,064, 0,098 ve 0,088 mmol/g olarak tespit edilmiştir. Bu metod eser elementlerin tespiti için önerilen bir yöntemdir.

Türker ve arkadaşları (2005) amberlit XAD-4 reçinesini önderiştirme için destek maddesi olarak kullanmışlardır. pH, adsorban, eluent tipi, eluent hacmi, metal iyonlarının tutunması, matrix girişim etkisi gibi parametreleri çalışmışlardır. Mn ve Co için adsorban yükleme kapasitesi sırayla 22 ve 29 mmol/g olarak tespit edilmiştir. Saptama sınırı Fe, Co, Mn ve Cr için sırasıyla 3,6, 3,0, 2,8 ve 3,6 olarak tespit edilmiştir. Tüm örnekler için % 10 bağıl hata tespit edilmiştir.

Dtlyw ve arkadaşları (2006) tarafından Pang Da Hai isimli çin bitkisi yardımıya Pb ve Cd için desorpsiyon ve emilim özellikleri çalışılmıştır. 0.1 mol/L HNO<sub>3</sub> ile yıkanmıştır. Adsorpsiyon metal konsantrasyonu, substrat konsantrasyonu ve müdahale iyonlarının varlığına bağlıdır. Adsorpsiyon kapasiteleri Pb ve Cd için sırasıyla 27,1 ve 17,5 mg/g olarak bulunmuştur. AAS spektroskopisi ile Pb ve Cd için tayin işlemi yapılmıştır.

Xbzhu ve arkadaşları (2007) atık sullardaki ağır metallerin tespiti için biyosorpsiyon yöntemini kullanmışlardır. Bu yöntem için *Cladophora fascicularis* bakteri kullanılmış olup adsorpsiyon özellikleri zaman fonksiyonu, Pb konsantrasyonu, sıcaklık ve varolan iyonlar gözönünde bulundurulmuştur. P<sup>H</sup> 5 ve 298 K olduğu durumda maksimum adsorpsiyon kapasitesi 198,5 olarak gerçekleşmiştir. Çalışmalar sonucu IR ile tayin edilmiştir.

Han ve arkadaşları (2006) atık sullardaki bakır ve kurşun tayini için biyosorpsiyon yöntemini kullanmışlardır. Bu yöntemde bira mayası kullanılmıştır. Langmuir ve Freundlich izoterm modeli uygulandı. Langmuir parametrelerine göre bira mayası üzerine bakır ve kurşun iyonlarının maksimum sorpsiyon kapasiteler 293 K de sırasıyla 0,0228 ve 0,0277 mmol/g olarak tespit edilmiştir. İzoterm çalışmalarda



kurşunun bağlama kapasitesinin bakırdan fazla olduğu tespit edilmiştir.

Soylak ve arkadaşları (2006) biyosorpsiyona dayalı katı faz ekstraksiyonu yöntemi ile kurşun, çinko, demir, nikel ve kobalt iyonlarının immobilize *Aspergillus fumigatus* bakterisi ile HP-2MG ile incelemişlerdir. *A. Fumigatus* miktarları dâhil olmak üzere eluent çözümleri, eluent tipi, analitik koşullar, akış oranları incelenmiştir. Test limitleri nikel 0,30 mg/L, kurşun 0,59 mg/L, çinko 0,53 mg/L, demir 0,41 mg/L, bakır 0,32 mg/L ve kobalt için 0,72 mg/L olarak tespit edilmiştir.

Erdoğan ve arkadaşları (2007) eser metal tespiti için *Bacillus subtilis* ile tuturulmuş amberlite XAD-4 reçinesi kullanmışlardır. İşlem *Bacillus subtilis* tutturulmuş Amberlit XAD-4 kullanılarak kolon dolgu maddesi hazırlanmış ve hazırlanan bu kolon dolgu maddesi ile matriks ortamında bulunan Cu (II) ve Cd (II) iyonlarının ayrılması ve önderiştirilmesi (biyosorpsiyonu) gerçekleştirilmiş ve alevli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi ile tayin edilmiştir.

Soylak ve arkadaşları (2010) biyosorpsiyon yöntemi ile çevre örneklerinden alüminyum tayini yapmıştır. Alüminyuma eşlik eden iyonların etkileride incelenmiştir. Tayin için içme suyu, pirinç unu ve köpekbalığı kasından yararlanılmıştır. Alüminyum konsantrasyonu ppb seviyesinde tespit edilmiştir.

Erdoğan ve arkadaşları (2010) kadmiyum ve nikel iyonlarının prekonsantrasyonları için *Geobacillus thermoleovorans* ile tuturulmuş amberlite XAD-4 reçinesi kullanmışlardır. Prekonsantrasyon tayini için FAAS kullanmışlardır. Elusyon işlemi 1M HCl ve 1M HNO<sub>3</sub> ile gerçekleştirildi. Cd %97, Ni %100 oranında geri alınmıştır.

Türker ve arkadaşları (2008) katı faz ekstraksiyon yöntemi ile immobilize *Penicillium digitatum* bakterisi kullanarak Cu ve Pb iyonlarının biyosorpsiyon işlemi yapılmıştır. Analitler alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayin edildi. Analitik algılama sınırları sırayla Cu, Zn ve Pb için 1,8, 1,3 ve 5,8 ng/ml olarak tespit edilmiştir (Eşer, 2012).

## 2.5. 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 edilişleri 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).

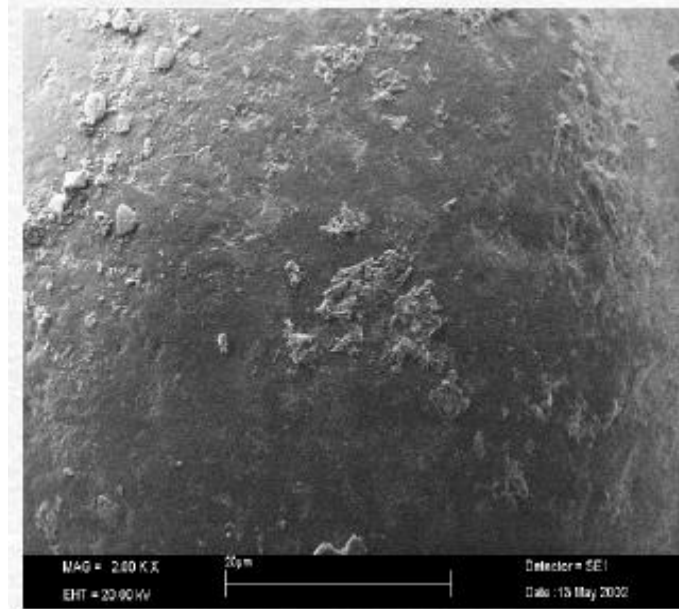
Metal şelatların adsorban üzerinde tutunmaları iki ayrı teknikte sağlanabilmektedir. Bu tekniklerden biri immobilizasyon tekniğidir. Bu teknikte, öncelikle şelat yapıcı, reçine ile reaksiyona girdirilerek kimyasal bağ ile reçine üzerinde tutunması sağlanır. Daha sonra metal çözeltileriyle işleme tabi 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 kullanılabilceği gibi, çeşitli elementlerin değişik ortamlarda halojeno kompleksleri şeklinde de tutma özelliğine sahiptir. Bu çalışmada XAD-4 reçinesi kullanılmıştır.

Bazı Amberlite XAD reçinelerinin özellikleri Tablo 2.2’de verilmiştir (Hazer ve ark. 2003; Yılmaz ve ark. 2006).

**Tablo 2.2.** Çeşitli Amberlite XAD Reçinelerinin Spesifik Özellikleri.

Amberlite	Kimyasal Yapısı	Yüzey alanı (m <sup>2</sup> /g)	Gözenek Çapı (Å)	Ortalama Çapı (µ)	Ugulamaları
XAD 4	Polistren DVB	750	100	640	Çözücü ve düşük molekül ağırlıklı türlerin ayrılmasında
XAD 16	Polistren DVB	800	150	700	Küçük moleküllerin ve anti biyotiklerin geri kazanımında
XAD 1180	Polistren DVB	500	400	530	Bitki ekstraktlarında ve büyük molekül ağırlıklı ürünlerin geri kazanımında
XAD 1600	Polistren DVB	800	150	400	Antibiyotik geri kazanımında.
XAD 7HP	Alifatik ester	500	450	560	Bitki ekstraktlarında, enzim saflaştırmada
XAD 761	Fenolik yapı	200	600	700	Bitki ekstraktlarında, enzim saflaştırmada

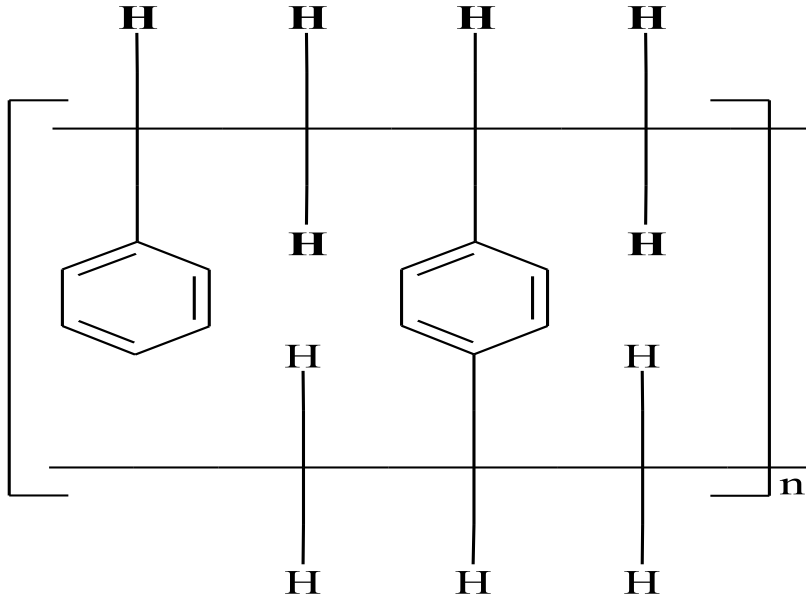
### 2.5.1. XAD-4 Reçinesi



**Şekil 2.3.** Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Amberlite XAD-4 Yüzey Yapısı (Soylak, 2007)

Absorplayıcı reçine (polisitren divinil benzen) amberlite XAD-4 reçinesi

mükemmel fiziksel, kimyasal ve termal kararlılığa sahiptir (Şekil 2.4; Tablo 2.3).



Şekil 2.4. Amberlite XAD-4 'in kimyasal yapısı.

Tablo 2.3. Amberlite XAD 4 Reçinesinin Bazı Fiziksel Özellikleri

---

Yapısı	Çapraz bağlı aromatik polimer
Fiziksel formu	Yarı saydam beyaz tanecikler
Yüzey alanı	$\geq 750 \text{ m}^2/\text{g}$
Nem tutma kapasitesi	% 54-60
Partikül büyüklüğü	0.49-0.69 mm
İnce tanecik içeriği	<0.350 mm: 5.0 % max.
Kaba tanecik içeriği	> 1.18 mm: 5.0 % max.
Gözeneklik	$\geq 0.50 \text{ mL/mL}$

---

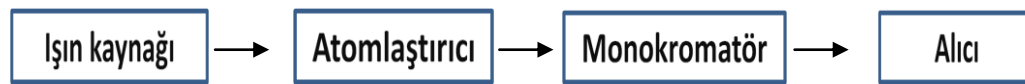
### 2.6. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometreleri

Atomik absorpsiyon spektroskopisi, yüksek sıcaklıkta gaz halinde bulunan temel haldeki element atomlarının kendilerine özgü dalga boylarında ışını absorblamasına dayanır. Temel düzeyde bulunan atomların elektromanyetik ışını absorblamaları ile atomlar, kararsız uyarılmış enerji düzeyine geçerler ve absorpsiyon miktarı temel düzeydeki atom sayısına bağlıdır. Günümüzde 70'in üzerinde elementin duyarlı olarak

taini sağlanabilmektedir. Atomik absorpsiyon spektrometresi ışık kaynağı, atomlaştırıcı, monokromatör, dedektör ve alıcı ortamlarından oluşur. Hem eser hem de yüksek derişimlerdeki metalik elementlerin tayini için yaygın olarak kullanılan bir analitik metottur.

### 2.6.1. Atomik Absorpsiyon Spektrometresi

Şekil 2.5’de atomik absorpsiyon spektrometresinin blok şeması görülmektedir. Atomik absorpsiyon spektrometresi ışık kaynağı, absorpsiyon ortamı (atomlaştırıcı), monokromatör ve alıcıdan oluşur.



Şekil 2.5. AAS ‘nin bloka şeması

#### 2.6.1.1. Işık Kaynakları

AAS de ışık kaynaklarının görevi numunedeki atomların absorplayacağı dalgaboyundaki ışınları yaymaktır. Dar çizgiler hem absorpsiyonda hem de emisyonunda tercih edilir. Çünkü dar çizgiler spektrumların örtüşmesinden kaynaklanan girişimi azaltır. Elementler çok dar dalga boyu aralığında (~0,002 nm) absorpsiyon yaparlar. Bu nedenle absorpsiyon hattından daha dar emisyon hattı veren bir kaynak kullanılmalıdır. Hidrojen ve tungsten lambası gibi sürekli ışın kaynağı kullanılmasıyla ölçülen absorbans çok küçük olur. Çünkü sürekli ışık kaynakları belli bir aralıkta her dalga boyunda ışın yayarlar ve bu ışınların çok azı dar absorpsiyon hatlı atom tarafından absorplanabilir.

##### 2.6.1.1.1. Oyuk Katot Lambaları

AAS’de en yaygın olarak kullanılan primer ışık kaynağı, oyuk katot lambasıdır. Oyuk katot lambasının katodu, iç çapı 2-5 mm olacak şekilde analiz edilecek elementin çok saf metalinden veya o elementi içeren alaşımdan yapılır. Katot ve anot cam silindir içine yerleştirilmiştir. Yüksek voltaj ve 30 mA’e kadar akım oyuk katotta tamamen boşalım sağlamak için kullanılır. Dolgu gazı olarak 1-5 torr basınçla Ar veya Ne gazı kullanılır. Ne gazı yüksek iyonlaşma potansiyelinden dolayı tercih edilmektedir (Kellner,1998). Elektrotlar arasına yeterli gerilim uygulanarak inert gazın anotta iyonlaşması sağlanır (Spektroskopi Yaz Okulu, KTÜ, 1988).

Bu iyonlar, iki elektrot arasında bulunan elektriksel potansiyel ile katot yüzeyine doğru hızlandırılır. Pozitif yüklü iyonlar, negatif yüklü katot yüzeyine şiddetle çarpınca, katottaki metal atomları, lambanın içindeki gaz atmosferine yayılır. Burada, hızlı hareket eden gaz iyonları ile çarpışarak üst enerji düzeyine çıkarlar. Tekrar temel enerji düzeyine dönerken, katot elementinin karakteristik spektrumunu yayarlar (Willard, 1988). AAS de analiz edilecek her bir element için farklı oyuk katot lambasının kullanılması gerekir.

### **2.6.1.1.2. Çok Elementli Lambalar**

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

### **2.6.1.1.3.Elektrotsuz Boşalım Lambaları**

Bu lambalar yüksek radyasyon yoğunluğu ve dar emisyon çizgi genişliği gösterirler. Hem atomik absorpsiyon spektroskopisinde hem de floresans spektroskopisinde kullanılır. Yüksek doğruluk ve gelişmiş tayin sınırları sunarlar. En büyük avantajı UV bölgesinde çalışmaktır. Tüp birkaç mg saf analit metali veya onun uçucu tuzu ile doludur. İnert gaz birkaç yüz paskal basınçta. Uyarıma enerjisi elektromanyetik alanda oluşturulur (mikrodalga veya radyo frekansı kullanılarak) (A-4 Lauri H.J. Lajunen, 1992 ).

### **2.6.1.1.4. Buhar Boşalım Lambaları**

Buhar boşalım lambaları incelenen elementin içeren bir buharda elektrik akımı geçirilmesiyle emisyon yaparlar.

### **2.6.1.2. Atomlaştırıcılar**

Atomlaştırıcıların görevi, örnekteki molekül veya iyonlardan temel haldeki element atomlarını oluşturmaktadır. Analizin başarılı olup olmaması, atomlaşmanın etkinliğine bağlıdır. Tayinin duyarlılığı ise, incelenen elementin atomlaşma derecesi ile doğrudan orantılıdır (Spektroskopi Yaz Okulu, KTÜ, 1988). Atomlaştırıcılar genel

olarak alevli ve alevsiz olmak üzere ikiye ayrılır.

#### **2.6.1.2.1. Alevli Atomlaştırıcılar**

Alevde örneğin atomlaştırılmasında ilk işlem, örnek çözeltisinin aleve püskürtülmesidir. Örnek nebulizer yardımıyla aerosol haline dönüştürülür. Aerosol halinde aleve örnek girdikten sonra çözücü buharlaştırılır. Kuruyan küçük parçacıklar ayrılır, katı madde kalır ve daha sonra katı madde buharlaştırılır. Bu moleküllerin bir kısmı nötr atomlar vermek üzere ayrılır. Bu atomlar AAS'de absorpsiyon yapan türdendir (Spektroskopi Yaz Okulu, KTÜ, 1988).

Alev sıcaklığı alev merkezinde en yüksek olup, yukarı doğru çıktıkça azalır. Alev sıcaklığı, alevi oluşturan gaz karışımına bağlı olarak değişir. Günümüzde en çok kullanılan gaz karışımları hava/asetilen ve azot protoksit/asetilen'dir. Hava/asetilen karışımının alevi kararlı ve çalışması kolaydır.

Alevli AAS'de hava/yakıt oranı ve alev yüksekliği, temel düzeyde serbest atomların sayısını maksimum yapacak, emisyon, iyonlaşma veya bileşik oluşumundan kaynaklanacak bozucu etkileri minimuma indireyecek şekilde seçilir (Spektroskopi Yaz Okulu, KTÜ, 1988).

#### **2.6.1.2.2. Alevsiz Atomlaştırıcılar**

Günümüzde en sık kullanılan alevsiz atomlaştırıcı grafit fırındır. Grafit fırın, grafitten yapılmış 2-3 cm uzunluğunda ve 0,5-0,8 cm iç çapında boru şeklinde bir tüptür. Fırın uçlarına uygulanan düşük gerilim (10 V) ve yüksek akımda (400 A) ısıtılır. Grafitin yanmaması için ortamdan sürekli olarak bir asal gaz veya azot geçirilir. Alevsiz atomlaştırıcılarda örnek daha uzun süre atomlaşma ortamında kalır ve aleve göre daha az örnek gerekir.

İlk defa 1970'lerde piyasada görülen elektrotermal atomlaştırıcılar, genel olarak kısa sürede tüm numunenin atomlaştırılması ve optik yolda atomların ortalama kalma sürelerinin bir saniye veya daha fazla olması nedeniyle, duyarlılıkta artış sağlar. Elektrotermal atomlaştırıcılarda, grafit bir kapsülde önce numunenin birkaç mikrolitresi ( $\mu\text{L}$ ) kurutulur ve sonra kül edilir. Kül edildikten sonra, yaklaşık 2000 °C'ye yükselen sıcaklığa neden olan akım, hızla birkaç yüz ampere artırılır; numunenin atomlaşması birkaç milisaniyeden saniyelere kadar değişen periyotta oluşur. Atomlaşan taneciklerin

absorpsiyon ve floresansları ısıtılmış yüzeyin hemen üzerindeki bölgede ölçülür.

Grafit atomlaştırıcıların düşük tekrarlanabilirliği ve numune matriks etkilerinin çoğu, grafit tüpün doğal gözeneginin azaltılmasıyla giderilebileceği ampirik olarak bulunmuştur. Atomlaşma sırasında matriks ve analitin bir kısmı açıkça, tüp duvarlarına difüzlenererek atomlaşma işleminin yavaşlamasına ve daha küçük analitik sinyal oluşumuna neden olur. Bu etkiyi önlemek için, birçok grafit tüp gözeneklerini kapatmak için ince pirolitik karbon tabakası ile kaplanır. Pirolitik grafit, oldukça homojen bir çevreden tabaka tabaka, sabırla biriktirilmiş bir çeşit yapay grafitir. Tüp yüksek bir sıcaklıkta tutulurken tüp içinden bir hidrokarbon ve inert gaz karışımı geçirilerek pirolitik kaplama yapılır. Elektrotermal atomlaştırıcılar, küçük numune hacimlerinde, alışılmadık yüksek duyarlılık avantajına sahiptir. Tipik olarak, 0,5 ve 10 µL'lik numune hacimleri kullanılır. Bu şartlar altında mutlak gözlenebilme sınırı tipik olarak 10 -10 g analit aralığında bulunur.

Alevsiz yöntemlerin bağıl kesinliği, %5 - %10 aralığında olup alev ve plazma atomlaşmasında beklenen % 1 veya daha iyi kesinlikten daha kötüdür. Üstelik fırın yöntemleri yavaştır ve element başına tipik olarak birkaç dakika gerekir. Son dezavantajı, düşük analitik aralık olup, üst sınır, alt sınırın yüz katından daha azdır. Sonuç olarak, elektrotermal atomlaştırıcılar, alev veya plazma atomlaştırıcıların gözlenebilme sınırı yetersiz olduğunda uygulanır. AAS'de analizin başarısı atomlaştırmanın etkinliğine bağlı olduğundan düzeneğin en önemli bileşeni atomlaştırıcıdır.

### 2.6.2. Monokromatör

Absorbansın ölçülmesi sırasında ışık kaynağından gelen polikromatik ışıktan tek bir dalga boyunda ışık seçilerek örneğe gönderilir. Polikromatik ışıktan monokromatik ışık elde edilmesini gerçekleştiren düzeneğe monokromatör adı verilir. Monokromatör olarak prizmalar veya optik ağı adını alan parçalar kullanılır.

Prizmalarda dalga boyunun seçilmesi, farklı dalga boylarındaki ışığın prizmalara girişte ve çıkışta farklı miktarlarda kırılması ilkesine dayanır. Örnek üzerine gönderilen ışığın daha monokromatik olmasını sağlamak için bazı spektrofotometrelerde çift monokromatör kullanılır. Böylece istenilen dalga boyu daha saf olarak, yani bant genişliği daha küçük olarak elde edilmiş olur (Yıldız ve ark. 1997).



### 2.6.3. Dedektör

AAS' de ışık sinyalinin elektronik sinyale dönüştürmek için foto çoğaltıcı dedektörler kullanılır. Foto çoğaltıcılar, ışığa duyarlı bir katot, ardarda dizilmiş bir seri dinod ve en sonda yer alan bir anottan meydana gelir. Katot Cs, Sb gibi kolay iyonlaşan bir alaşımla kaplıdır. Monokromatörden gelen bir foton, katot yüzeyine çarparak elektron koparır ve bu elektron birinci dinoda çarparak, buradan elektronlar koparır. Bu işlem diğer dinodlar üzerinde elektron sayısı katlanarak devam eder ve 12 dinod için  $>1,7 \times 10^7$  elektron açığa çıkar. Sonuçta foton sinyali genliği oldukça yüksek olan elektronik sinyale çevrilmiş olur. Atomik absorpsiyon spektroskopisinde yapılan analizlerin temeli Beer Yasasına dayanır (Skoog ve ark. 1991).

### 2.6.4. Engellemeler

Atomik absorpsiyon spektroskopisi yönteminde diğer analitik yöntemlerde olduğu gibi, analizi yapılacak örneğin özelliklerine göre birçok engelleme ile karşılaşılır. Bu engellemeler, kimyasal, iyonlaşma, spektral ve zemin engellemeleri olarak sınıflandırmak mümkündür.

#### 2.6.4.1. Kimyasal Engellemeler

Atomlaştırıcılarda oluşan kimyasal reaksiyonların sonucudur. Alevli AAS'de analiz edilecek elementin oksijenle kararlı bileşikler oluşturması sonucu atom derişimi azalır ve dolayısıyla absorpsiyon değeri de olması gerekenden daha küçük elde edilir. Kararlı oksitler atomlaştırıcı sıcaklığında bozulmayan bileşiklerdir.

**Örnek:** Al ve Fe düşük sıcaklıkta kararlı  $Al_2O_3$  ve  $Fe_2O_3$  oluşturur. Ayrıca B, Ti, W, U, V ve Zr da kararlı bileşikler oluşturur.

#### Önlemler:

1) Alevdeki oksijen miktarının azalması. Bu da hava-asetilen yerine  $C_2H_2-N_2O$  kullanılmasıyla sağlanabilir.

2) Spektroskopik tampon maddelerin kullanılması. Spektroskopik tampon kimyasal girişimenden olan bileşiklerden birisi ile reaksiyona girerek kararlı bileşiklerin oluşmasını engeller.

Örneğin;  $PO_4^{3-}$  varlığında Ca analizi yapılırken ortama La tuzu eklenir. La,

fosfat ile reaksiyona girerek  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  oluşumunu engeller.

### 2.6.4.2. Fiziksel Engellemeler

Kalibrasyon grafiğinin elde edilmesinde kullanılan standart çözeltilerin yoğunluk, viskozite ve benzeri fiziksel özelliklerinin analit çözeltisinin fiziksel özelliklerinden farklı olmasından kaynaklanır.

Önlem olarak seyreltme önerilebilirse de bu analit derişiminin analiz cihazının duyarlılığının altına düşmesine neden olabilir. Diğer bir önlem ise triton-X gibi yüzey gerilimini azaltıcı çözeltilerin kullanılması uygulanabilir.

### 2.6.4.3. Spektral Engellemeler

İki element atomunun veya bir element atomu ile çok atomlu bir türün aynı dalga boyundaki ışığı absorplaması (pozitif hataya) veya yaymasıyla (negatif hataya) girişime neden olur.

**Örnek:** Tb (Terbiyum) ve Mg için 285,2 nm; Cr ve Os için 290,0 nm'de; Ge ve Ca için 422,7 nm'de.

### Önlemler:

**Pozitif hata için önlemler:** Analiz edilecek elementin diğer hattı kullanılır. Negatif hata için dedektör HCl' den örneğe gelen ışığın önüne yerleştirilen ışık bölücünün frekansına ayarlanır. Bu frekans dışındakiler algılanmaz.

### 2.6.4.4. Zemin Engellemeleri

Örnek çözeltisinde bulunan çok atomlu türlerin ışığı absorplaması analizde çok ciddi sorunlara yol açar. Bu tür engellemeler, zemin engellemesi olarak adlandırılır. Zemin adsorpsiyonu adı da verilen zemin engellemesi, atomik absorpsiyon spektroskopisi yönteminde en önemli hata kaynağıdır. Zemin engellemesine küçük parçacıkların ışığı saçmasının da katkısı vardır. Oyuk katot lambasının yaydığı ışımının tanecikler tarafından saçılması Rayleigh yasasına uyar ve saçılma şiddeti kullanılan dalga boyunun dördüncü kuvveti ile ters orantılıdır. Absorpsiyon hücresinde bulunan molekül ya da radikallerin ışığı absorplaması, alevli ve özellikle grafit fırınlı atomlaştırıcılarda, önüne geçilmesi için özel yöntemler gerektiren bir engellemedir. Atomlaşma sıcaklığı küçük bir elementin alevli atomlaştırıcıda analizi sırasında alevde

oluşan oksit, hidroksit, siyanür türü kararlı bileşikler, elementin atomlaşma sıcaklığında bile bozunmayarak oyuk katot lambasının yaydığı ışığı absorplarlar.

Zemin engellemerinin düzeltilmesi için çeşitli yöntemler önerilmiştir. Bunlar, çift-hat yöntemi, sürekli ışık kaynağı kullanımı yöntemi, zeeman etkisi yöntemi ve smith-Hieftje yöntemidir. Çift- hat yöntemi, absorbansın iki farklı dalga boyunda iki kez ölçülmesi ilkesine dayanır. Birinci ölçüm analizi yapılan elementin ışığı absorpladığı karakteristik dalga boyunda yapılır. Elde edilen absorbans, analizi yapılan elementin atomlarının absorbansı ile zemin engellemesine neden olan diğer türlerin absorbanslarının toplamına eşittir. İkinci ölçüm ise, analizi yapılan elementin atomlarının absorpsiyon yapamayacağı fakat birinci dalga boyuna çok yakın bir dalga boyunda yapılır. Bu dalga boyu bir asal gaz veya başka bir elementin oyuk katot lambasından elde edilen bir hat olabilir. İkinci dalga boyunda ölçülen absorbans, sadece zemin engellemesine neden olan türlerin neden olduğu absorbanstır. İki ölçüm arasındaki fark örneğe ait gerçek absorbans değerini verir.

### **2.6.5. AAS'nin Analitik Performansı ile İlgili Terimler**

#### **2.6.5.1. Duyarlık**

Okunan absorbans değerlerinin standart çözeltilerin derişimlerine karşı grafiğe geçirilmesiyle elde edilen kalibrasyon eğrisinin eğimi duyarlık olarak tanımlanır. AAS için duyarlılık  $1/E_{\text{eğim}}$  olarak alınır ve genelde 0,0044 Absorbans veren derişim duyarlılık olarak tanımlanır.

#### **2.6.5.2. Doğruluk**

Doğruluk, ölçümlerin gerçek veya kabul edilen değere olan yakınlığını ifade eder. Doğruluğun ölçüsü, hatanın büyüklüğüdür. Doğruluk bir sonuç ile gerçek değer arasındaki yakınlığı ölçer. Kesinlik ise, aynı yolla ölçülen birçok sonuç arasındaki yakınlığı açıklar. Kesinlik, sadece ölçmeleri tekrarlayarak tayin edilir. Diğer taraftan, bir büyüklüğün gerçek değeri hiçbir zaman tam olarak bilinemediğinden, doğruluk tam olarak tayin edilemez. Doğru değer yerine, doğru kabul edilen değer kullanılmalıdır. Doğruluk, mutlak hata veya bağıl hata terimleri ile ifade edilir.

Mutlak hata: Bir  $X_i$  büyüklüğünün ölçümündeki mutlak hata  $E = X_i - X_t$  eşitliği ile verilir. Buradaki  $X_t$ , sözkonusu büyüklüğün gerçek değer kabul edilen değeridir.

Bağıl hata (Er): genellikle, mutlak hatadan daha faydalı bir büyüklüktür. Yüzde bağıl hata aşağıdaki ifade ile verilir.

$$Er = \frac{(X_i - X_t)}{X_t} \times 100$$

### 2.6.5.3. Kesinlik

Kesinlik, ölçümlerin tekrarlanabilirliğini, yani tamamen aynı yolla elde edilen sonuçların birbirine yakınlığını gösterir. Genellikle standart sapma ile verilir. Yapılan analizlerde sonuçlar birbirine ne kadar yakınsa ölçümlerin kesinliği o kadar yüksektir.

### 2.6.5.4. Gözlenebilme Sınırı (LOD)

Zemin gürültüsünden farklı olarak tespit edilen fakat miktarı belirlenemeyen en küçük analit derişimidir. Bir analit yöntemin performansı genellikle gözlenebilme sınırı ile ölçülür. Alete ve metoda da bağlıdır.

### 2.6.5.5. Tayin Sınırı (LOQ)

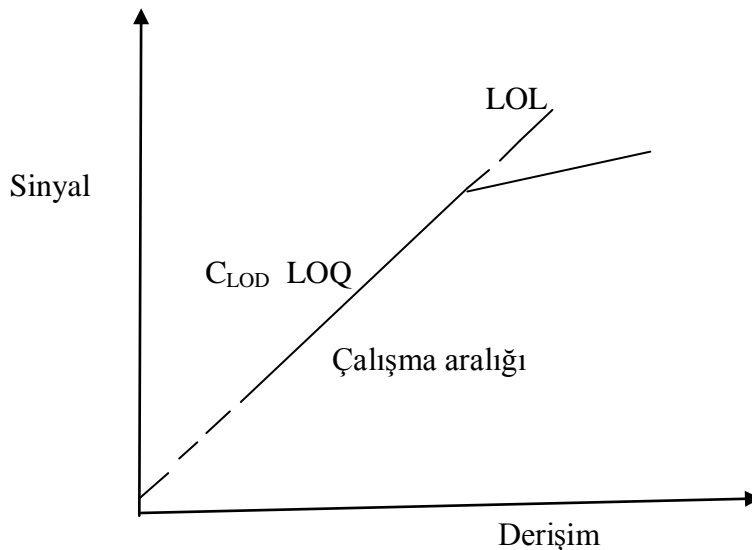
Uygun doğruluk ve kesinlikle miktarı saptanabilen en küçük derişimdir. Normal olarak gözlenebilme sınırı yakınında tayin yapılamaz.

S: Sinyal (Absorbans veya emisyon şiddeti)

$S_{LOD} = X_b + 3\sigma_b$  (%95 olasılıkla gözlenebilir sinyal)

$X_b$  = Boş çözeltinin tanık ya da kör ortalama değeri

$\sigma_b$  = Boş çözeltinin (tanık) standart sapması



$$S=mC + n \text{ (C= derişim, m= eğim)}$$

Buradan,

$$S_{LOD} = MC_{LOD} + n$$

$$C_{LOD} = (S_{LOD} - n) / m$$

$$C_{LOD} = (X_b + 3\sigma_b - n) / m \text{ ( Buradan } n=X_b)$$

Dolayısıyla;

$$C_{LOD} = 3\sigma_b / m$$

$$C_{LOQ} = 3C_{LO}$$

### 2.6.6. Analitik Uygulamalar ve AAS ile Elementlerin Kantitatif Tayini

Atomik absorpsiyon ile nicel analiz, moleküllerin ışığı absorpsiyonun da olduğu gibi, Lambert-Beer yasasına dayanır, yani ortama gelen ışımaya şiddetinin  $I_0$  ortamdan çıkan ışımaya şiddetine  $I$ , oranının logaritması olarak tanımlanan absorbans  $A$ , ilgilenen elementin derişimiyle doğru orantılıdır.

Atomik absorpsiyon spektroskopisi, özellikle eser miktardaki metallerin nicel analizleri için çok yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem ile tayin edilebilen elementler, analizleri için seçilmesi gereken dalga boyu değerleri ile birlikte verilmiştir. Beer lambert yasasına göre ölçülen absorbans, absorbans hücresindeki atom derişimiyle doğru orantılıdır. Analizi yapılacak element için, bilinen derişimde çözeltiler kullanılarak kalibrasyon doğrusu veya standart ekleme doğrusu oluşturulur ve örnek çözeltilisindeki derişim saptanır.

Başta arsenik olmak üzere periyodik tablonun 4A, 5A, 6A gruplarında bulunan elementlerin oluşturduğu uçucu hidrürlerinden yararlanılarak bu elementlerin atomik absorpsiyon spektroskopisi yöntemi ile analizleri yapılabilir. Analizi yapılacak elementin,  $AsH_3$ ,  $BiH_3$ ,  $SbH_3$ ,  $H_2Se$ ,  $SnH_4$  gibi gaz halinde hidrürünü oluşturarak örnek çözeltilisinden ayırmak birçok engellemeyi önlediği için bu yöntem yukarıda söz edilen elementlerin analizinde çok kullanılır. Hidrür oluşturma yöntemi olarak bilinen bu yöntemde hidrür oluşturabilmek için, çinko metali ile hidroklorik asit arasındaki tepkimede ürün olarak elde edilen hidrojen, analizi yapılacak element ile tepkimeye sokulur.

Daha duyarlı sonuçların alındığı bir başka yöntemde ise, asitlendirilmiş örnek çözeltilisine sodyumborhidrür çözeltilisi eklenerek hidrürün oluşumu sağlanır. Oluşan hidrür, kuartztan yapılmış absorpsiyon hücresine gönderilir. Absorpsiyon hücresi 850-1000 °C arası bir sıcaklığa ısıtılarak hidrürün ayrışması ve analizi yapılan elementin gaz halindeki atomlarının elde edilmesi sağlanır.

Değişimi daha düşük elementler için grafit fırın kullanılır. Deniz suyu gibi aşırı tuz içeren örneklerde, oluşacak engellemelerin önüne geçmek için özel yöntemler geliştirilmiştir. NaCl bileşiğinin etkisinin giderilebilmesi için ortama  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  eklenir ve kütleme basamağının sıcaklığı 500 °C civarında tutulur. Eklenen  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  ve  $\text{NH}_4\text{Cl}$  bileşiklerini oluşturur ve NaCl bileşiğinin atomlaşmaya etkisi engellenir. Böyle örneklerde, zemin engellemelerinin düzeltilmesi için uygulanan yöntemlere başvurmak gerekir. Su örneklerinde Hg analizi için soğuk buhar yöntemi As, Bi, Sn ve Se analizleri için ise hidrür oluşturma yöntemi uygulanmaktadır.

### 3.MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Bu çalışmada eser miktardaki Zn (II) ve Mn (II) iyonları için ayırma ve zenginleştirme yöntemi geliştirildi. XAD-4 dolgulu kolonda yapılan zenginleştirmeden sonra bu metallerin tayini FAAS ile gerçekleştirildi.

##### 3.1.1.Alevli Atomik Absorpsiyon spektrometresi (FAAS)

Bu çalışmada Zn (II) ve Mn (II) metallerinin tayini Unicam model 929 AAS marka atomik absorpsiyon spektrometresi ile gerçekleştirildi. Alev olarak hava-asetilen kullanıldı. Tayinler kalibrasyon yöntemi ile gerçekleştirildi. Ölçümler tabloda gösterilen çalışma parametreleri ile yapılmıştır.

**Tablo 3.1.** Atomik Çalışma Koşulları

	Metal İyon	
	Çinko	Mangan
HC lamp current (Ma)	10,0	12,0
Slit width (nm)	0,5	0,2
Wavelength (nm)	213,9	279,5

##### 3.1.2. Perstaltik pompa

Katı faz ekstraksiyonu için Watson Marlow Sci 323 marka peristaltik pompa kullanılmıştır.

##### 3.1.3. pH metre

Deneysel çalışmalarda çözeltilerin pH ayarlanmasında Hanna Instruments model dijital pH metre kullanıldı.

##### 3.1.4. Analitik Terazî

Kullanılacak kimyasaların tartımları Denner Instrument marka 0,0001 g duyarlılıktaki analitik terazide alınmıştır.

##### 3.1.5. Mikropipet

Çözelti hazırlama ve seyreltme işlemlerinde Biohit marka 5000 µL, 1000 µL,

500 µL, 100 µL arasında ayarlanabilen mikropipetler kullanıldı.

#### 3.1.6. Saf su cihazı

Deneysel çalışmalarda kullanılan çözelti hazırlanmasında deiyonize su kullanıldı. Kullanılan cihazın markası Millipore Elix 5 tir.

#### 3.1.7. Etüv

Cam ve plastik malzemelerin kurutulması için 200 °C kadar ısıtılabilen Nuve model etüv kullanıldı.

#### 3.1.8. Magnetik Karıştırıcı

*Aanoxybacillus kamchatkensis assaccharedens* (KG8) bakterisi tutturulmuş Amberlite XAD-4 reçinesinin homojenliğini sağlamak için magnetik karıştırıcı kullanıldı.

### 3.2. Kullanılan Reaktifler ve Hazırlanışı:

Kullanılan tüm kimyasallar sigma markadır. Çalışmalarda kullanılan tüm çözücü ve kimyasal maddeler analitik safliktadır. Metal çalışma çözeltileri konsantrasyonu 1 ppm (mg/L) olup buda günlük olarak 1000 ppm lik stok çözeltiden hazırlanmıştır. Elüent olarak kullanılan HCl ve HNO<sub>3</sub> çözeltileri laboratuarda bulunan konsantre HCl ve HNO<sub>3</sub> asitten hazırlanmıştır. Laboratuar cam malzemeleri %5 lik HNO<sub>3</sub> asit çözeltisinde bırakılıp daha sonra saf su ile iyice yıkayıp etüvde kurutuldu.

#### 3.2.1. Tampon Çözeltiler

pH ayarlamaları için tampon çözeltiler kullanıldı. pH 2 için Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-NaHSO<sub>4</sub>, pH 4-6 için CH<sub>3</sub>COOH-CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>, pH 8-10 için NH<sub>3</sub>-NH<sub>4</sub>Cl uygun miktar maddeleri içeren çözeltiler saf suda hazırlandı.

#### 3.2.2. Elüent Çözeltiler:

**0.5 M HCl çözeltisi:**19,8 mL derisik HCl (d:1,19 g/mL, % 65' lik) alınıp, saf su ile 500 mL'ye tamamlandı.

**1 M HCl çözeltisi:**39,7 mL derisik HCl (d:1,19 g/ml, % 65' lik) alınıp, saf su ile 500 mL'ye tamamlandı.

**2 M HCl çözeltisi:**79,4 mL derisik HCl (d:1,19 g/mL, % 65' lik) alınıp, saf su



ile 500 mL'ye tamamlandı.

**0.5 M HNO<sub>3</sub> Çözeltisi:** 17,4 mL derisik HNO<sub>3</sub> (d:1,40 g/mL, % 65' lik) alınıp, saf su ile 250 mL'ye tamamlandı

**1 M HNO<sub>3</sub> Çözeltisi:** 34,8 mL derisik HNO<sub>3</sub> (d:1,40 g/mL, % 65' lik) alınıp, saf su ile 250 ml'ye tamamlandı.

**2 M HNO<sub>3</sub> Çözeltisi:** 69,4 mL derisik HNO<sub>3</sub> (d:1,40 g/mL, % 65' lik) alınıp, saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.

### 3.2.3. Ara Stok Çözeltisi

Tayini yapılacak elementin asetat tuzundan stok çözeltileri hazırlandı. 1000 ppm lik 100 ml Zn çözeltisi için 0,168 g Zn(CH<sub>3</sub>COOH)<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O analitik terazi ile alınıp %1 lik HNO<sub>3</sub> çözeltisi ile 100 ml' ye tamamlandı.

Tayini yapılacak elementin asetat tuzundan stok çözeltileri hazırlandı. 1000 ppm lik 100 ml Mn çözeltisi için 0,223 g Mn (CH<sub>3</sub>COOH)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O analitik terazi ile alınıp %1 lik HNO<sub>3</sub> çözeltisi ile 100 ml' ye tamamlandı.

### 3.3. Model Çözelti ve Kolonun Hazırlanması

Biyosorpsiyon prosedürü model çözeltiler üzerinde test edildi. Bu amaçla 5-50 µg Zn, 2,5-25 µg Mn içeren 100 mL metal çözeltileri seçilen pH da deneysel olarak belirlenen akış hızlarıyla kolondan geçirildi. Bu çözelti tamamen geçtikten sonra kolon iki kere 10 mL' lik saf su ile yıkandı. Metal iyonlarının reçine kolonundan sıyrılması bir molar HCl ile gerçekleştirildi. Sıyırma çözeltisi gerektiğinde seyreltildi ve FAAS ile tayin edildi.

250 mg *Aanoxybacillus kamchatkensis subsp. assaccharedens* (KG8) tuturulmuş XAD-4 5 mL saf su ile ıslatıldı. Bu karışım 1,0 cmx10cm lik polietilen kolona aktarıldı. Kolon kullanılmadan önce temizlenmek amacıyla 1 M HCl çözeltisi ve çift distille su ile yıkandı. Sonra kolondan tampon çözelti geçirilerek ön şartlandırıldı. Tüm deneyler boyunca 1 mL da<sup>-1</sup> akış hızı kullanıldı. Kolondan çıkan sıvı fraksiyonlar halinde toplandı ve AAS kullanılarak analiz edildi.

#### 3.3.1. Mikroorganizma

##### 3.3.1.1. Mikroorganizmanın Hazırlanışı

Taşlıdere-Batman kaplıcasından izole edilen, *Anoxybacillus kamchatkensis* subsp. *assaccharedens* (KG8) çubuk şekilli, Gram-pozitif, fakültatif anaerob, hareketli, endosporları oval şekilli subterminal konumlu ve üreme sıcaklık aralığı 35-65 °C (optimum 55 °C) olan ılımlı termofil karakterde bir bakteri olarak tanımlanmıştır. Yağ asidi profilinden KG8 *Anoxybacillus* cinsinin bir üyesidir (Gül-Güven, 2007 ).

KG8' in nişasta hidrolizinin pozitif olması bu bakterilerin endüstriyel açıdan önemli olan enzimlerin (amilaz, proteaz vs.) kaynağı olduklarını göstermektedir (Gül-Güven, 2007 ).



Şekil 3.1. KG8'in Mikroskopik Görüntüsü (Gül-Güven, 2007 )

Bu çalışmada yeni izole edilen ve tanımlanan KG8 bakterisinin XAD-4' e tuturulmuş halinin metal tutma kapasiteleri araştırılmıştır.

*Aanoxybacillus kamchatkensis subsp. assaccharedens* (KG8) 500 mL lik erlenlerde 100 mL sterilize edilmiş NB ve Agar ortamında ekilerek hazırlandı. 10 mL'lik taze kültürler 55<sup>0</sup>C de 24 saat çalkalayıcıda karıştırıldı (200 rpm). Biyokütleyi izole etmek için kültürler 20 dakika santrifüj edildi. Daha sonra bakteri peleti asit (10 mL 0,1 M HCl) ve saf su ile yıkandı. Yıkanan bu bakteriler tekrar santrüflendi ve oluşan biyokütle lyofilize edilerek kuru bakteri tozu elde edildi.

### **3.3.2. *Aanoxybacillus kamchatkensis subsp. assaccharedens* (KG8) tutturulmuş Amberlite XAD-4 Hazırlanması.**

Absorplayıcı reçine (polisitiren divinil benzen) amberlite XAD-4 ( yüzey alanı 750 m<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>, gözenek çapı 4 nm ve gözenek boyutu 20-60 mesh) Sigma firmasından tedarik edildi. Bu XAD-4 reçinesi organik ve inorganik safsızlıklar içermekteydi. Safsızlıkları uzaklaştırmak için reçine 4 molar HCl ile etkileştirildi. Daha sonra reçinenin pH'ı nötral olana kadar saf suyla yıkandı, ikinci olarak reçine bir etanol-su (1:1) çözeltisi ile ve son olarak yine saf suyla yıkandı. Reçine bir polietilen şişe içinde saklandı.

Bakterilerin Amberlite XAD-4 reçinesi üzerine tuturulması aşağıdaki şekilde yapıldı. 150 mg kuru ve ölü bakteri tozu 1g Amberlite XAD-4 ile karıştırıldı. Bu karışım 2 mL çift distile su ile ıslatıldı ve tamamen karıştırıldı. Bakteri tarafından alınan reçine miktarı etüvde 105 <sup>0</sup>C ye kadar 1 saat ısıtılarak elde edilen kuru karışımın ağırlığının önceki ağırlığından farkı alınarak ölçüldü. *Aanoxybacillus kamchatkensis subsp. assaccharedens* (KG8) ile Amberlite XAD-4 arasındaki teması maksimize etmek için ıslatma ve kurutma basamakları 2 kez tekrarlandı ve böylece tutulma verimi artırıldı. Elde edilen ürün daha sonra öğütülerek orijinal büyüklüğe (20-60 mesh) getirildi ve absorbent olarak kullanıldı.



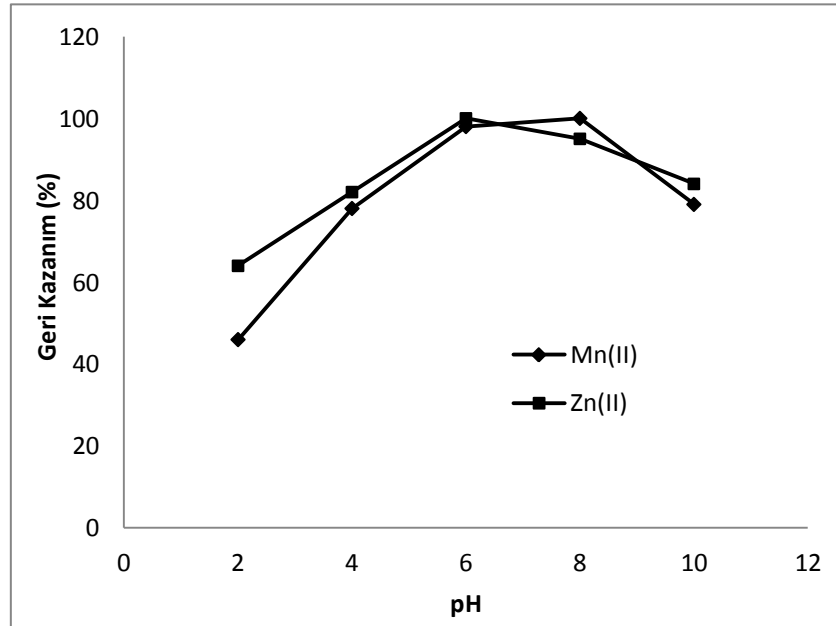
## 4.BULGULAR

### 4.1. pH Etkisi

Mini kolondaki metal iyonlarının tutunması biyokütlenin fonksiyonel grupları ile metal iyonları arasındaki iyonik etkileşime dayanır. Bundan dolayı metal çözeltilerinin pH 'ı bu sistemde çalışmak için önemli bir parametredir.

Ağır metallerin tutunma verimine pH' nın etkisinin incelenmesi amacıyla, içerisinde 50 µg Zn(II) ve Mn(II) iyonlarını içeren 50 mL'lik (1ppm) model çözeltiler, tampon çözelti ile istenilen pH'lara ayarlandıktan sonra 0.25 g *Aanoxybacillus kamchatkensis subsp. assaccharedens* (KG8) tutturulmuş Amberlite XAD-4 içeren kolondan yaklaşık 1 mL/dak. akış hızı ile geçirildi. Model çözeltiler kolondan geçirildikten sonra 5 mL 1 M HCl ile elüe edildi. Her bir pH'da üç paralel örnek ve iki paralel kör çalışması yapıldı. Yüzde geri kazanım değerleri üç paralel çalışmanın sonucunun ortalaması olarak hesaplandı. Geri kazanım verimlerinin pH ile değişimi şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Zn(II) için pH; 6, Mn(II) için pH; 8 olduğu ve çalışılan metallerin bu pH aralıklarında nicel olarak zenginleştirilebilecekleri görülmektedir.

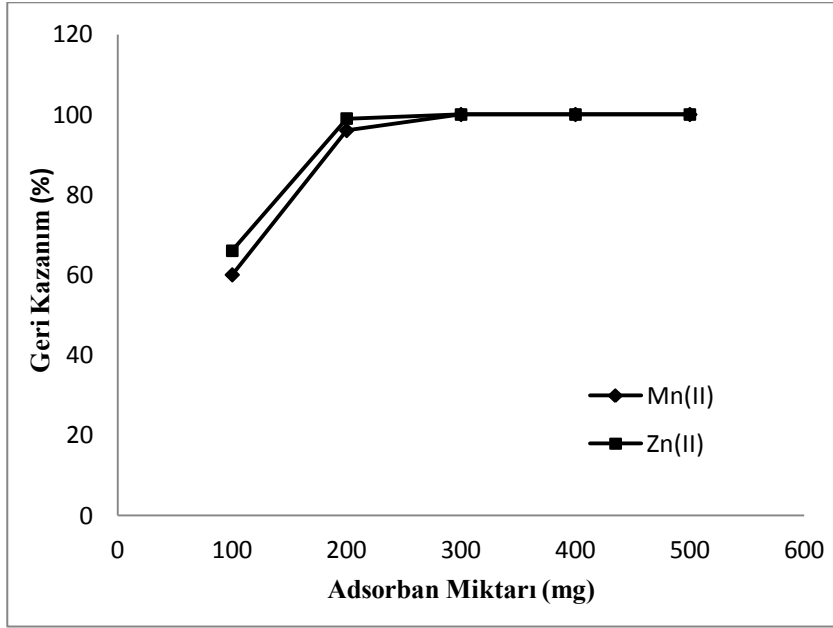


Şekil4.1.Zn(II) ve Mn(II) iyonlarının geri kazanılmasına pH'ın etkisi.

### 4.2. Adsorban Miktarının Etkisi:

Alıkonma ve geri kazanma üzerine adsorbant (bakteri yüklü Amberlite XAD-4) miktarının etkisi Zn (II) ve Mn (II) için incelendi. Adsorbant miktarı 50 ile 500 mg arasında değişmektedir. Her iki metal için 250 ile 500 mg arasındaki adsorbant miktarlarının alıkonma ve tutunma miktarları %100 yakın olarak bulundu (Şekil 4.2). Bu nedenle Zn (II) ve Mn (II) için sonraki deneylerde adsorbant miktarı 250 mg olarak kullanıldı.

Gerçek örnekler ile çalışıldığında adsorban üzerinde yabancı maddeler de tutunabilmektedir. Bu da adsorbanın çalışılan iyonla karşı adsorpsiyon kapasitesini düşürebilmektedir. Bu nedenle gerçek numune zenginleştirme işlemlerinde 250 mg adsorban miktarı tercih edilmiştir.



Şekil 4.2. Zn(II) ve Mn(II) iyonlarının geri kazanma verimine adsorban miktarının etkisi.

### 4.3. Elüent Cinsi, Derişimi ve Hacminin Etkisi:

Önderiştirme tekniğini etkileyen diğer bir önemli faktör metal iyonlarının bakteri yüzeyinde ayrılmasında kullanılan elüentin türü ve derişimidir. Biyokütlenin parçalanmasını önlemek için kullanılan asidin derişimi olabildiğince az olmalıdır. HNO<sub>3</sub> ve HCl elüent olarak test edildi. Optimizasyon çalışmaları minimum derişim ile maksimum geri kazanma elde edilmek amacıyla gerçekleştirildi. Kolona yüklenen bakteriyel biyokütlenin üzerinde bulunan metal iyonlarının uzaklaştırılması için değişik

hacimlerde nitrik asit ve hidroklorik asidin etkisi incelendi. 5mL 1M HCl çözeltisinin uygun olduğu bulundu (geri kazanma verimi %98 den fazla, Tablo 4.1) .

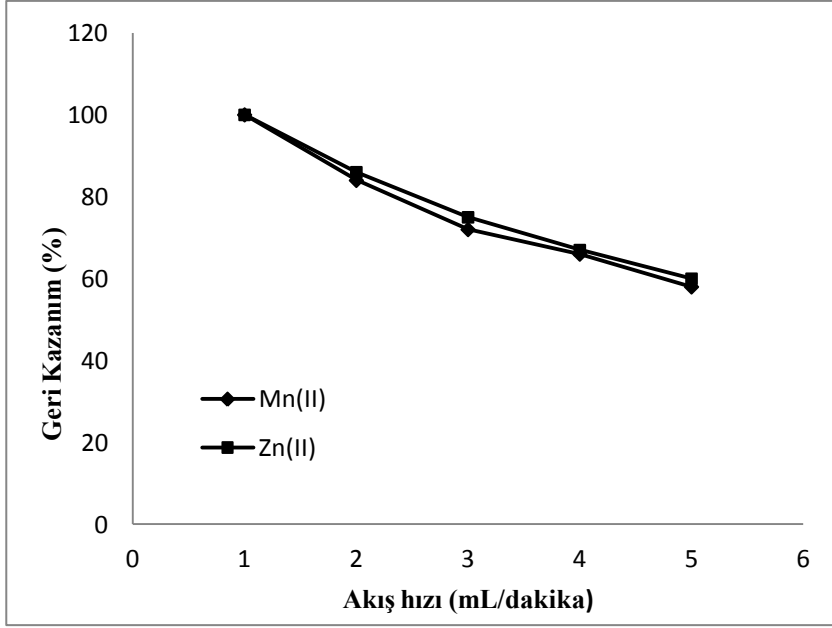
Elüsyon küçük hacimli olması zenginleştirme katsayısını artırdığından, yüksek zenginleştirme katsayısı elde edebilmek için 5 mL'lik 1 M HCl çözeltisi daha uygundur.

**Tablo 4.1.**Zn(II) veMn(II) iyonlarının Geri kazanımına elüent cinsi ve derişiminin etkisi ( n=3).

Element	Geri AlmaÇözeltisinin türü	Geri AlmaÇözeltisinin hacmi, mL	Geri AlmaÇözeltisinin derişimi mol/L	Geri Alma Çözeltisinin verimi (%)
Zn(II)	HCl	3	1	82
		5	1	99
		10	1	99
	HNO <sub>3</sub>	3	1	76
		5	1	91
		10	1	96
Mn(II)	HCl	3	1	81
		5	1	98
		10	1	99
	HNO <sub>3</sub>	3	1	83
		5	1	87
		10	1	93

#### 4.4. Akış Hızının Etkisi

Bakteri tutulmuş Amberlite XAD-4 üzerine metal iyonu alıkonulma derecesi farklı akış hızlarındaki metal iyonu çözeltileri ile çalışıldı. Her bir metal iyonu için 50 µg metal içeren çözelti (50 mL) optimum pH değerine ayarlandı. Daha sonra bu çözeltiler bakteri yüklenmiş kolondan 1-5 mL dak<sup>-1</sup> arasındaki akış hızlarıyla geçirildi. Her iki metal içinde optimum akış hızı 1 mL dak<sup>-1</sup> olarak bulundu. Analiz süresinin çok uzamaması için 1 mL dak<sup>-1</sup>den daha yavaş akış hızları çalışılmadı. Akış hızı 4 mL dak<sup>-1</sup> olduğunda adsorpsiyon hızı azalmaktadır. Mini kolondan Zn ve Mn ayrılmasında 1 M HCl çözeltisinin etkiside çalışıldı. 1 mL dak<sup>-1</sup>, lik akış hızının metal iyonlarının matriksten sıyrılması için en etkili olduğu bulundu (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Optimum pH’da Zn(II) ve Mn(II) iyonlarının % Geri kazanımına örnek akış hızının etkisi.

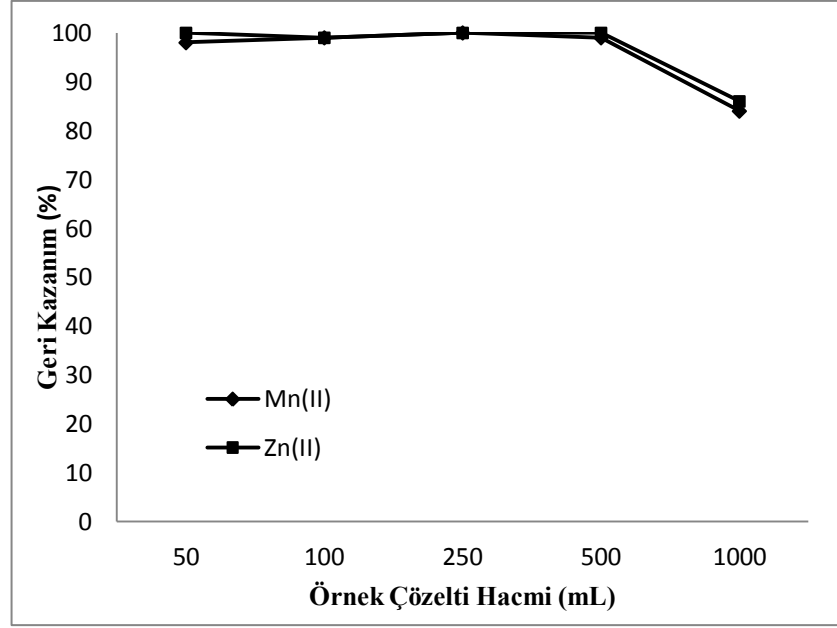
#### 4.4.1. Elüent Akış Hızının Etkisi

Kolondan 1mL/dk hızında geçirilen örnek çözeltiler, 5 mL 1 M HCl ile değişik akış hızlarında elüe edilerek eluatlar analiz edilmiştir. Sonuçlar Şekil 4.3’ de verilmiştir. Optimum elüent akış hızı 1 mL/dk seçilmiştir.

#### 4.4.2. Örnek Hacminin Etkisi:

Gerçek numuneler örneğin su, biyolojik sıvılar vb. çok düşük derişimlerde metal iyonu içerirler. Bu nedenle bu eser derişimleri tayin edebilmek için uygulanabilecek çözelti hacmini bilmek önemlidir. Yüksek önderiştirme faktörü elde etmek için Zn ve Mn ekstraksiyonu üzerine örnek hacminin etkisi 0,20, 0,10, 0,04, 0,02 ve 0,01  $\mu\text{g mL}^{-1}$  Zn ve Mn içeren 50, 100, 250, 500 ve 1000 mL hacimdeki çözeltiler optimum koşullarda kolondan geçirildi (Şekil 4.4). 500 ml örnek çözeltilisine kadar metallerin yüksek verimle (%97’ den fazla) geri kazanılabileceği bulundu. Daha yüksek hacimlerde analit geri kazanımı azalmaktadır. Bu çalışmada elüsyon hacmi 5 mL olduğundan analitlerin önderiştirme faktörleri 100 idi. Bu sonuçlara göre kullandığımız metod ile Zn ve Mn’ de 0.04  $\mu\text{g mL}^{-1}$  derişime kadar tayin edilebilmektedir.





Şekil 4.4. Optimum pH'da Zn (II) ve Mn (II) iyonlarının geri kazanımına Örnek hacminin etkisi

#### 4.5. Yabancı İyonların Etkisi:

Atomik adsorpsiyon spektroskopisinde temel bir problem yabancı iyonların etkisidir. Bu çalışmada NaCl, KBr, NaNO<sub>3</sub>, Ca (II) ve Mg (II) gibi bazı yabancı iyonların etkisi incelendi (Tablo 4.2). Bu katyonların törelans limitleri tabloda verilmiştir. Verilen törelans limiti  $\pm\%5$ ' lik hataya sebep olan elektrolit iyon derişimi olarak tanımlanmıştır. Bu sonuçlar gösteriyor ki suda normal derişim seviyelerinde bulunan iyonlar kullanılan deneysel koşullarda interfer etki göstermemektedir. Bu demektir ki önerdiğimiz önderiştirme metodu bu iyonları içeren doğal numunelerine uygulanabilir.

## 4.BULGULAR

**Tablo4.2.**Girişim yapabilecek bazı iyonların Çinko ve Manganın geri kazanma verimine etkisi (Zn=50  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Mn=50  $\mu\text{g L}^{-1}$ ).

Element	Konsantrasyon ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Geri Kazanım	
		Zn(II)	Mn(II)
Na <sup>+</sup>	-	98,2	99,1
	100	97,1	98,4
	500	96,2	97,9
K <sup>+</sup>	-	98,7	98,7
	100	97,3	98,2
	500	95,6	97,6
Mg <sup>+2</sup>	-	98,1	99
	50	96,7	98,1
	100	93,2	95,8
Ca <sup>+2</sup>	-	98,7	99,7
	50	97,1	97,3
	100	96,7	95,8
Cl <sup>-</sup>	-	99,8	98,7
	100	98,2	96,8
	500	97,3	95,4
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-	99,1	98,2
	100	96,9	97,4
	500	95,8	94,6

### 4.6. Önderiştirme Faktörü

10-20  $\mu\text{g.L}^{-1}$  derişimdeki çözeltilerden Zn ve Mn geri kazanımı % 99-100 verimle gerçekleştirildi. Her iki metal içinde 250 mL' lik numune hacmindeki önderiştirme faktörü 100 olarak bulundu. Bulunan sonuçlar tablo 4.3 de gösterilmiştir.

**Tablo 4.3.** Önderiştirme Faktörleri

Metal İyon	Hacim	Konsantrasyon	Geri Alma Hacmi	Kazanım (%)	Önderiştirme Faktörü
Zn (II)	500	25 ppb	5	98	100
Mn (II)	500	25 ppb	5	99	100

#### 4.7. Adsorbanın Toplam Tutma Kapasitesi

Metal iyonlarının toplam tutma kapasitesi aşağıdaki prosedürle belirlendi. İlk olarak bakteri yüklü 0,25 g Amberlite XAD-4 kolona dolduruldu. Sonra uygun bir metal iyonu çözeltisi optimum pH'ında 1,0 mL dak<sup>-1</sup>' lik bir akış hızıyla kolondan geçirildi. Bakteri yüklenmiş Amberlite XAD-4 doygunluğa ulaşmaya kadar çözeltideki metal iyonu derişimi AAS ile tayin edildi. Her bir metal iyonunun reçine üzerinden tutunma kapasitesi uygun grafikten hesaplanarak bulundu. Zn ve Mn için tutunma kapasiteleri sırasıyle 0,0125 ve 0,0296 mol g<sup>-1</sup> olarak bulundu ve sonuçlar tablo 4.4 de gösterilmiştir.

**Tablo 4.4.**Zn(II) ve Mn(II) iyonlarının tutma kapasite değerleri

Metal iyonu	Tutunma Kapasitesi	
	mg.g <sup>-1</sup>	mol.g <sup>-1</sup>
Zn (II)	1480	1,25.10 <sup>-2</sup>
Mn (II)	1890	2,96.10 <sup>-2</sup>



## 5.SONUÇ VE TARTIŞMA

Çalışmamızda eser düzeydeki Zn(II) ve Mn (II) elementlerinin, *Anoxybacillus kamchatkensis subsp. assaccharedens* (KG8) tutturulmuş Amberlite XAD-4 ile dolgulu kolonda zenginleştirme yöntemi uygulayarak Alevli atomik spektroskopi ile tayini yapmaktır. Bu iyonların numunelerde miktarlarının az olması alevli AAS'nin tayin sınırının altında olması ve çeşitli girişimler sebebiyle, istenilen duyarlılıkla doğrudan tayinleri olamamaktadır.

Girişimi önlemenin ve analiz elementini tayin edilecek konsantrasyona getirmenin bir yolu, girişim yapan bileşenler ile tayin elementini iyon değiştirme, ekstraksiyon, adsorpsiyon v.b gibi ayırma ve zenginleştirme metodları ile birbirinden ayırmak ve bileşimi bilinen ortama almaktır. Zenginleştirme ve ayırma yöntemleri ile bu sorunlar giderilebilir. Zenginleştirme işlemi ile tayin edilecek eser element, büyük hacimli bir örnekten, bağıl olarak oldukça küçük hacimli bir tayin çözeltisi içine alınır. Bu sırada girişim oluşturabilecek bileşenler ortamdan uzaklaştırılarak ayırma işlemi de gerçekleştirilir.

Eser elementlerin kolonda kantitatif tutunmaları için optimum şartları belirlemek için çalışmalar yapıldı. Çalışmalarda iç çapı 1 cm boyu 10 cm olanlar kolonlar kullanıldı. Kolon çapının 1 cm olması daha önceki çalışmalarda belirlediğimiz bir değerdir. Kolon çapının artması, geri kazanma veriminin azalmasına sebep olmaktadır. Nedeni ise, aynı miktar adsorban daha geniş çaplı bir kolonda daha az yatak yüksekliğine sahip olacağından, çözeltinin kolondan geçiş hızı artmaktadır. Kolon çapının azalması ise numunenin süzülmesinde zorluk yaratmaktadır. Çalışmanın amacı iyonların kolonlara maksimum düzeyde tutunmaları ve sonra da maksimum düzeyde geri alınmalarının sağlandığı optimum şartların belirlenmesidir. İlk olarak optimum örnek pH'sını belirlemek amacıyla gerekli tampon çözeltiler kullanılarak, model çözelti ortamı pH 2-10 aralığında ayarlanarak, eser elementlerin geri kazanma verimleri incelendi (Şekil 4.1). Zn (II) için pH; 6,0 Mn (II) için pH; 8,0 arasında kantitatif olarak ( $R > \%95$ ) geri kazanım oldu. İyonların asidik pH da tutunmaları bir avantajdır. Çünkü pH ayarlaması sırasında numunede bulunabilecek bazı elementlerin hidroksit veya oksitleri halinde çökmeleri ile çıkabilecek sorunlar ortadan kalkmaktadır.

Geri kazanma veriminin, kolondan geçen numune çözeltisinin akış hızına ve tutunan iyonların elüe edilme hızına bağlı olması nedeniyle numune çözeltisinin akış hızının geri kazanma verimine etkisi de incelenmiştir. Bu amaçla belirlenen en uygun şartlarda Zn (II) ve Mn (II) iyonlarını içeren 100 mL'lik model çözeltiler kolondan 1-6 mL/min'lik hızlarla geçirildi. Kolonda tutunan metaller daha önce belirlenen geri alma çözeltisi ile geri kazanıldı.

Geri alma çözeltisindeki çinko ve mangan alevli AAS ile tayin edildi. Şekil 4.4’de çözelti akış hızının her iki iyon için 1 mL/dakika olarak bulunmuştur. Bilindiği gibi, yüksek akış hızlarında hem tutunma hem de elüsyon azalacaktır. Ancak akış hızının yüksek olması deney süresini kısaltması açısından önemlidir. Dakikada 2 mL’lik bir akış hızı, dakikada 1 mL’ lik hıza göre süzme süresini 2 kat azaltır. Bu da özellikle numune hacmi büyük olduğunda çok önem kazanır. Elüsyon çözeltisi hızı da önemli olmakla birlikte, çözelti hacminin az olması (10 mL) nedeniyle toplam deney süresine etkisi çok büyük değildir.

Reçinede tutunan eser elementlerin kantitatif geri kazanmasına elüent cinsi, derişimi ve hacim etkisini incelemek için, optimum pH’a ayarlanmış model çözeltiler kolondan geçirilerek, çeşitli elüent çözeltileri ile çalışma yapıldı (Tablo 4.2). Çalışılan elüent çözeltilerde en iyi kantitatif sonuç 1 M HCl’in 5 mL çözeltisi olduğu tespit edildi.

Çinko ve mangan elementlerin geri kazanma verimine adsorban miktarının etkisi 50-500 mg aralığında adsorban kullanılarak çalışma yapıldı. Bunun için çinko ve mangan içeren 100 mL’ lik model çözeltiler daha önce belirlenen pH’lara ayarlandı ve kolondan 1 mL/dakika akış hızında geçirildi. Kolonda tutunan çinko ve mangan iyonları daha önce belirlenen uygun geri alma çözeltisi ile geri alınarak alevli AAS ile tayin edildi. Çinko ve mangan için geri kazanma veriminin kullanılan adsorban miktarı ile derişimi Şekil 4.2’ de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, geri kazanma verimi, her iki element için de 250 mg’ a kadar artmış, 250 mg’dan sonra ise önemli bir artış olmamıştır. Bu nedenle, çalışılan elementler için kantitatif geri kazanmanın olduğu ve uygun akış hızının sağlanabildiği 250 mg’ lık adsorban miktarı en uygun değer olarak belirlendi.

Numune içerisindeki element konsantrasyonu çok düşük olduğundan, tayinin yapılabilmesi için oldukça büyük hacimdeki numune çözeltisinin kolondan geçirilmesi gerekmektedir. Geri alma çözeltisi 5 mL olduğundan, teorik olarak 100 kat zenginleştirmek için 500 mL çözelti kolondan geçirilmelidir. Böyle çok seyreltik çözeltilerin büyük hacimlerinin geçirilmesiyle zenginleştirmenin yapılıp yapılamayacağını araştırmak için de numune hacminin geri kazanma verimine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, numune çözeltisindeki element miktarı sabit tutularak çözelti hacmi artırılmış ve gittikçe azalan konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. Belirlenen optimum şartlarda yapılan zenginleştirme işlemi sonunda, 500 mL’ye kadar her iki element için de geri kazanma oranı %96’in üzerinde bulunmuştur (Tablo 4.4).

Buraya kadar anlatılan çalışmaların hepsi model çözeltilerle yapılan çalışmalardı. Analiz edilecek element saf su içerisinde idi Zn (II) ve Mn (II) iyonlarının geri kazanma

değerine matris iyonlarının etkisini araştırmak için farklı konsantrasyonlarda  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Cl}^-$  ve  $\text{NO}_3^-$  iyonlarını içeren 50 mL' lik örnek çözeltileri optimum pH' a ayarlanarak uygun akış hızında kolondan geçirildi. Elde edilen veriler Tablo 4.3' de görülmektedir.

Adsorbentin adsorpsiyon kapasitesini belirlemek için optimum şartlarda element çözeltileri kolondan geçirildi. Daha sonra kolonda tutunmuş iyonlar elue edilip ölçüm yapıldı, buradan 1 g reçinenin ne kadar metal iyonunu tuttuğu hesaplandı. Zn (II) iyonu için 1480 mg, Mn (II) için 1890 mg olarak bulundu buda diğer adsorbentlerle kıyaslandığında yüksek bir değerdir.

Yaptığımız çalışmaya benzer bir çalışmada Türker ve arkadaşları (2008) tarafından yapılmıştır. Türker ve arkadaşları katı faz ekstraksiyon yöntemi ile immobilize *Penicillium digitatum* bakterisi kullanarak Cu ve Pb iyonlarının biyosorpsiyon işlemi yapılmıştır. Analitler alevli atomik adsorpsiyon spektrometresi ile tayin edilmiş ve analitik algılama sınırları sırayla Cu, Zn ve Pb için 1,8, 1,3 ve 5,8 ng/ml olarak tespit edilmiştir.

Yine yaptığımız çalışmaya benzer bir çalışma Erdoğan ve arkadaşları (2010) tarafından yapılmıştır. Erdoğan ve arkadaşları kadmiyum ve nikel iyonlarının prekonsantrasyonları için *Geobacillus thermoleovorans* ile tuturulmuş amberlite XAD-4 reçinesi kullanmışlardır. Prekonsantrasyon tayini için FAAS kullanmışlardır. Elüsyon işlemi 1M HCl ve 1M HNO<sub>3</sub> ile gerçekleştirilmiş ve Cd %97, Ni %100 oranında geri alınmıştır.

### **Sonuçların Özetlenmesi:**

Bu çalışma ile varılan sonuçlar şöyle özetlenebilir;

- Amberlite XAD-4 tuturulmuş *Anoxybacillus kamchatkensis subsp. assaccharedens* (KG8) adsorbantı ile Zn ve Mn asidik ortamda zenginleştirilebilmekte ve alevli AAS ile tayin edilecek seviyeye getirilebilmektedir.
- Katı faz ekstraksiyonu SPE birçok avantaj sağlar. Bunlar; esneklik, yüksek zenginleştirme faktörü, emisyonun olmaması, az reaktif tüketimi nedeniyle maliyetin düşük olması, daha da önemlisi çevreye dost olması
- Kullanılan sistemin hazırlanması kolay ve hızlıdır.
- Tayin sınırının düşük olması ve matris iyonlarına karşı toleransının yüksek olması, önerilen metodun büyük ölçekli Zn ve Mn tayini için uygun olmasını sağlar.
- Kolonun birkaç kez tekrar kullanılması büyük avantaj sağlar.
- Amberlite XAD-4 tuturulmuş *Anoxybacillus kamchatkensis subsp. assaccharedens* (KG8) adsorbentinin adsorpsiyon kapasitesi Zn (II) iyonu için 1480, Mn (II) iyonu

için 1890 mg.g<sup>-1</sup>olarak yüksek bir değer bulunmuştur.

- Geliştirilen yöntem ile Zn ve Mn iyonları yaklaşık 100 kat zenginleştirilebilmektedir.
- Kullanılan adsorbent geri alma çözücüsü ile temizlendikten sonra tekrar kullanılabilir. 0,25 gr adsorbent ile en az 30 defadan daha fazla kullanılmasına rağmen, tüm çalışmada hemen hemen aynı verim ile kullanılabilir. Çalışılan elementler için yöntemin doğruluğu standart referans maddeler kullanılarak kontrol edildi. Her iki element içinde bulunan bağıl hata < %5 dir.
- Uygulanan yöntemin matriks iyonlarından gelen yabancı iyonlara karşı toleransının yüksek olması Zn ve Mn tayini için başarıyla uygulanmasını sağladı.
- 500 mL numune hacmi ve 5 mL son hacim için önderiştirme faktörü 100 olarak bulundu.
- Geliştirilen yöntem ile nehir suyu, tütün, çay ve trafiğin yoğun olduğu bölgeden alınan partikül örneklerinde çalışılan elementler doğru bir şekilde tayin edilebilmektedir.



## 6. KAYNAKLAR:

Akkaya, S.E. ve Kıvanç, M.2008.Termofil Bakteriler; Sıcak Su Kaynaklarında Yaşayan Gr (+) Basillerin İzolasyon ve İdentifikasyon Yöntemleri. *AKÜ Fen Bilimleri Dergisi*. 02 61-70

Akman,S., Bakırcıoğlu, D., Bakırcıoğlu,Y., 2010. Biosorption of lead filamentous fungal biomass-loaded tio2 nanoparticles, *journal of Hazardous Materials*, 178, 1015-1020

Amundsen, P-A. Staldivik, J.F., Lukin, A. A., Kashulin, A. N., Popava, A. O. and Reshetnikov, S. Y. 1997. “Heavy metal contamination in freshwater fish from the border region between Norway and Russia”, *TheScience of the Total Environment*201: 211-224

ANONİM, 2006b. Zinc (Zn) – Chemical properties, healt and environmental effects. [www.lenntech.com/periodic-chart-elements/Zn-en.html](http://www.lenntech.com/periodic-chart-elements/Zn-en.html).

ANONİM, 2009. Ğtai-itai disease. [http://en.wikipedia.org/wiki/Itai-itai\\_disease](http://en.wikipedia.org/wiki/Itai-itai_disease)

Arda, M. (2000). Temel Mikrobiyoloji. Medisan Yayın Serisi no:46, ANKARA.

Bagheri, H., Saraji, M., 2002. Conductive polymers as new media for solid-phase extraction: Isolation of chlorophenols from water sample. *Journal of Chromatography A*, 986, 111-119.

Baker. G.C., Gaffer. S., Cowan. A.D. ve Suharto. A.R. 2001. Bacterial Community Analysis of Indonesian Hot Springs, *FEMS Microbiology Letters*, 200, 103-109.

Bakırcıoğlu D., 2000, Toprakta Makro ve Mikro Element Tayini, Doktora Tezi, 17-40, Trakya Üniversitesi, Edirne.

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*.

Bat, L., Gündoğdu, A., Yardım, Ö., Zoral, T. ve Çulha, S.,2006. “Sinop ili İç Liman Bölgesindeki zooplanktonve bazı ekonomik balıklarda ağır metal düzeyleri”, *Sunder (Su Ürünleri Mühendisleri Derneği Dergisi)* 25,26: 22-27

Brock, T.D., 2001. Chapter I:The Origins of Research on Thermophiles. (Ed:Reysenbach A-L, Voytek M. Mancinelli, R. Kluwer Acedemic/Plenum Publishers, New York, (218)

Canpolat, Ö., 2001. Hazar Gölünde yakalanan *Capoeta capoeta umbla'* da (Heckel, 1843) bazı ağır metal miktarlarının tespiti, Yüksek lisans tezi, Fırat Üniv. Fen Bilm. Ens. Su

Ürünleri Temel Bilimleri Anabilim Dalı, 50.

Crouch, A.R., Holler J.F., West M.D., Skoog, A.D, Fundamentals of Analytical Chemistry Douglas A.S.

Çalışkan, E., 2005. Asi Nehri’nde Su, Sediment ve Karabalık (*Clarias gariepinu* Burchell, 1822)’ ta Ağır Metal Birikiminin Araştırılması. Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 75s, Hatay.

Çevre analiz laboratuvarı deney notları, Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü Erzurum, 2007

Çepel, N., 2003. “Ekolojik sorunlar ve çözüm önerileri”, Tubitak Popüler Bilim Kitapları, sf:183.

Çınar, Ö., 2008. Çevre kirliliği ve kontrolü. Nobel yayın dağıtımı. 1. basım, 201s. Ankara.

Çiçek, A. ve Koparal, A. S., “Porsuk Baraj Gölü’nde yaşayan *Cyprinus carpio* ve *Barbus plebejus*’ da kurşun, krom ve kadmiyum seviyeleri”, Ekoloji Çevre Dergisi, 39 : 3-6 (2001).

Demirjian, dc., Moris-Vara, F., Sassidy, Cs. (2001). Enzymes from Extremophiles. Curr Opin Chem Biol. 5,144–51.

Edwards, C. Thermophilles, Microbiology of Extreme Environments (Ed: Edwards C.), Open University Press, England, 1, 1-33, (1990).

Erdoğan, S., Gul-Guven, R., Doğru, M, 2007, The use Bacillus subtilis immobilized on Amberlite XAD-4 as a new biosorbent in trace metal determination, journal of Hazardous Materials 149, 166-173.

Eşer, S., 2012. *Salinivibro sharmensis* tutturulmuş Amberlit XAD-4 kullanarak katı faz ekstraksiyonu ile Cd (II) ve Ni (II) iyonlarının FAAS ile tayini, Yüksek lisans tezi, Diyarbakır s.11.

Kayhan, F., E., 2006. Su Ürünlerinde Kadmiyumun Biyobirikimi ve Toksisitesi E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, E. U. Journal of Fisheries&Aquatic Sciences 2006 Cilt/Volume 23, Sayı/Issue (1-2): 215–220.

Fujiwara, S., (2002). Extremophiles: Developments of Their Special Functions and Potential Resources. Journal of Bioscience and Bioengineering. 94, 518-525.

Gök,N., Türker, A.R., Kendüzler, E., Baytak, S, 2008. *Penicillium digitatum* immobilized on pumice Stone as a new solid phase extractor for preconcentration and/or separation of trace metals in environmental samples, *Journal of Hazardous Materials* 153, 975-983

Gül-Güven, R.(2004). *Alicyclobacillus acidocaldarius* subspecies *ritmannii*' nin  $\beta$ -Galaktozidaz Enzimi Üzerine Çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi, Sf 64, DİYARBAKIR.

Gül-Güven, R. (2007). Sıcak su kaynaklarından bakteri izolasyonu, tanımlanması ve *Alicyclobacillus acidocaldarius* subsp. *ritmannii*'nin  $\beta$ -galaktozidaz enziminin saflaştırılması. Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi, 160, DİYARBAKIR.

Haki, GD., Rakshit, Sk. (2003). Developments in Industrially Important Thermostable Enzymes: a Review. *Bioresour Technol.* 89,17–34.

Hu, 2000. Exposure to metals. *Occup. Environ. Med.*, 27 (4) : 983-996.

Jenkins Joseph. (1999). *The Humanure Handbook* (Chapter 3. Thermophilic Microorganisms) 143 Forest Lane, Grove City, PA.

Kabas, N. G., Modifiye edilmiş pomza ile ağır metal uzaklaştırılması Yüksek lisans tezi, 19, ISPARTA – 2007

Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., Timur, S., 2004. Metallerin çevresel etkileri-II. *Metalurji Dergisi*, 137, 46-51.

Keleş, S. ve Göl, C., “Çok fonksiyonlu bir orman çıktısı: Su”, *Türkiye Tabiatını Koruma Derneği, Tabiat ve İnsan Dergisi*, 1-2: 3-12 (2004)

Kellner, R. 1998. et al., *Analytical Chemistry*, pp.453,461, Germany

Kristjonsson, J. K. ve Stetter K.O. *Thermophilic Bacteria* (Ed: Kristjonsson, J.K) CRC Pres, Inc. London, 1-13, (1991).

Kristjansson, M.M., Asgerisson, B.(2002). Properties of Extremophilic Enzymes and Their Importance in Food Science and Technology. *Handbook of Food Enzymology* (ed. J.R. Whitaker), NY, USA, p.77-99.

Kruger, T., 2002. Effects of Zinc, Copper and Cadmium on *Oreochromis Mossambicus* Freeembryos and Randomly Selected Mosquito Larvae as Biological Indicators During Acute Toxicity Testing (MSc thesis, not published) Rand Afrikaans University, Faculty of Science,

Johannesburg S.A.

Lajunen, A-4 Lauri H.J. Spectrochemical Analysis by Atomik Absorption and Emission, Royal Society of Chemistry, 1992.

Lale,M., Turker, A.R., Bağ, H, 2000, Determination of Cu, Zn, Fe, Ni and Cd by flame atomic absorption spectrophotometry after preconcentration by Escherichia coli immobilized on sepiolite,Talanta 51,1035-1043.

Lemos,VA., Novaes, C.G., Lima, AS., Viera, DR., 2008, flow injection preconcentration system using a new functionalized resin of determination of cadmium and nickel in tobacco samples, journal of Hazardous Materials 155, 128-134.

Madigan, M.T., Martinco, J.M. ve Parker, J. (2000). Procaryotic diversity the Archaea. Brock Biology of Microorganisms, (Ed: Corey, P.F.) 546-571.

Martinez, L., Smichowski, P., Cerutti, S.E.,Gil, R.A, Pacheco, P.H, 2011, Biosorption; A new rise for elemental solid phase extraction methods, Talanta 85, 2290-2300.

Narin İ. , Soylak, M., Elçi, L., Dogan, M., 2000. Determination of trace metal ions byAAS in natural water samples after preconcentration of pyrocatechol violetcomplexes on an activated carbon column. Talanta, 52, 1041-1046.

Narinİ. , Soylak, M., Elçi, L., Dogan, M., 2009.Analize Yaklaşım ve Karasu, Sarmısaklı Çayı Kızılırmak Nehrindeki Pb, Cu, Ni, Co ve Cd Kirliliğinin Araştırılması, 1.Tıbbi Jeoloji Çalıştayı, Nevşehir s.2

Nazina, T.N., Tourova, T.P., Poltarauş, A.B., Novikova, E.V., Grigoryan, A.A., Ivanova ,A.E., Lysenko, A.M., Petrunkaya, V.V., Opisov, G.A., Belyaev, S.S. ve Ivanov, M.V. Taxonomic study of aerobic thermophillic bacilli: description ofGeobacillus subterraneus gen. Nov., sp. nov. and G. Uzenensis sp. nov. from petroleum reservoirs and transfer of Bacillus stearothermophilus, B.thermocatenulatus, B.thermoleovarans, B.k Kaustophilus, B. thermoglukosidasius and B. thermodenitrificans to Geobacillus as the new combinations G. stearothermophilus, G. thermocatenulatus, G. thermoleovarans, G. kaustophilus, G. thermoglukosidasius and G. Thermodenitrificans. *IJSEM.*, 51, 433-446, ( 2001).

Papagiannis, I., Kagalou, I., Leonardos, J., Petridis, D. and Kalfakakou V., “ Copper and zinc in four freshwater fish species from Lake Pamvotis (Greece)”, Environment International, 30: 357-362 (2004)

Poli, A., Esposito ,E., Lama, L., Orlando, P., Nicolaus, G., De Appolonia, F., Gambacorta, A., Nicolaus, B., 2006. *Anoxybacillus amylolyticus* sp. Nov., a Thermophilic Amylase Producing Bacterium Isolated from Mount Rittmann (Antarctica), Systematic and Applied Microbiology. 29,300-3007.

Santos dos ,E.J., Herrmann, A.B., Ribeiro, A.S., Curtius, A.j, 2005, Determination of Cd in biological samples by flame AAS following on-line preconcentration by complexation with O,O-diethyldithiophosphate and solid phase extraction with Amberlite XAD-4, Talanta 55,593-597.

Saraçoğlu, S., Elçi, L., 2001. Column solid-phase extraction with chromosorb-102 resin and determination of trace elements in water and sediment samples by flame atomic absorption spectrometry. Analytica Chimica Acta, 452, 77-83.

Sellmann, E, Schroder, K.L., Knoblich, I. M., veWestermann, P. Purification and characterization of DNA polymerases from Bacillus species. *J.Bacteriol.*, 174, 4350-4355, (1992).

Shi,J., Xiao, H., Zhang, J., Li, Y.,Li, H., Han, R, 2006 biosorption of copper and lead ions by waste beer yeast ,journal of Hazardous Materials B137, 1569-1576.

Skoog, D.A., West D.M., Holler F.J. 1991. Analitik Kimya Temelleri, s.87, 90-91, Ankara.

Soylak, M., Tuzen, M., Melek, E 2006, Flame atomic absorption spectrometric determination of cadmium (II) and Lead (II) after their solid phase extraction as bibenzylidithiocarbamate chelates on Dowex Optipore V-493, Analytica Chimica Acta 578, 213-219 SPEKTROSKOPİ YAZ OKULU, KTÜ. 1988. Trabzon.

Soylak, M. 2007. Off-line ve on-line katı faz özütleme zenginleştirme yöntemleri Erciyes Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 38039 Kayseri

Tufekci,M.,Soylak,M.,Elci,L.,Senturk,HB.,Duran,C,2009,Simultaneouspreconcentration of Co(II), Ni(II), Cu(II) and Cd(II) from environmental samples on Amberlite XAD-2000 column and determination by FAAS, journal of Hazardous Materials 162 292-299.

Tuncay, Y., 2007. Kovada Gölü'nde Yaşayan İstakozlarda (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) Ağır Metal Birikiminin İncelenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 51s, Isparta.

Tuzen, M., Soylak, M., Citak, D., Ferreira, H., Korn, M.G.A., Bezerra, M.A. 2009, journal of Hazardous Materials 162, 1041-1045

Tuzen, M., Soylak, M., 2006, Diaion SP-850 resin as a new solid phase extractor for preconcentration-separation of trace metal ions in environmental samples, journal of Hazardous Materials B137 1496-1501

Tuzen, M., Soylak, M., Elçi, L., 2005. Multi-element pre-concentration of heavy metals ions by solid phase extraction on Chromosorb 108. *Analytica Chimica Acta*, 548, 101-108.

Türkmen A., 2003 İskenderun Körfezi'nde Deniz Suyu, Askıdaki Katı Madde, Sediment ve Dikenli Taş İstiridyesinde (*Spondylus spinosus* Schreibers 1973) Oluşan Ağır Metal Birikimi Üzerine Araştırma, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. 152s.

Türkoğlu, M., 2008. Van Göl'ünden Alınan Su, Sediment ve Ğnci Kefali (*Chalcalburnus tarichi*, Pallas 1811) Örneklerinde Bazı Ağır Metal Düzeylerinin Araştırılması. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 59s, Van.

Yarsan, E., Bilgili, A. ve Türel, İ. 2000. "Van Göl'ünden toplanan midye (*Unio stevenianus Krynicki*) örneklerindeki ağır metal düzeyleri", *Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi*, 24: 93-96

Willard, H.H. 1988. et al, *Instrumental Methods of Analysis*, pp.229-230, 234, 243-244, Belmont, California

Williams, R.A.D., Simith, K.E., Welch, S.G., Micallef, J., ve Sharp, R.J. (1995). DNA relatednes of *Thermus suşs*, description of *Thermus brockianus* sp. nov., and proposal to reestablish *Thermus thermophilus* (Oshima and Imahori), *IJSB.*, 45, 495-499.

Yıldız, A., Genç, Ö., Bektaş, S. 1997. Enstrümental Analiz Yöntemleri, Hacettepe Üniversitesi.

Zeev B. Alfassi, *Determination of Trace Elements*, VCH, 1994.