

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***ANOXYBACILLUS* sp. SO-B1 İLE MODİFİYE EDİLMİŞ
AMBERLİT XAD-16 KULLANILARAK Cu(II) İYONUNUN
BİYOSORPSİYONU VE ÖNDERİŞTİRİLMESİ**

Zehra AKSOY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR

Haziran 2011

T.C

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

DİYARBAKIR

Zehra AKSOY tarafından yapılan “*Anoxybacillus* sp. SO-B1 ile Modifiye Edilmiş Amberlit XAD-16 Kullanılarak Cu(II) İyonunun Biyosorpsiyonu ve Önderiştirilmesi” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Kimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyesinin

Ünvanı

Adı Soyadı

Başkan: Prof.Dr.

Berrin ZİYADANOĞULLARI (Danışman)

Üye : Doç.Dr.

Fırat AYDIN

Üye : Yrd.Doç.Dr.

Sadin ÖZDEMİR

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 29 / 06 / 2011

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../...../2011

Prof. Dr. Hamdi TEMEL

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ

(MÜHÜR)

TEŞEKKÜR

Bilgi, birikim ve tecrübelerinden yararlanarak, yüksek Lisans öğrenimim ve tez çalışmam boyunca her daim desteği ile yanımda olarak yardımlarını ve anlayışını esirgemeyen danışman hocam Kimya Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Berrin ZİYADANOĞULLARI'na, teşekkür ederim.

Tezimin deneysel aşamasında bilgi ve tecrübelerinden yararlanarak bize yol gösteren Dr. Elif VARHAN ORAL'a, teşekkür ederim.

Laboratuar çalışmalarım süresince desteklerini esirgemeyen Dr. İbrahim DOLAK'a, teşekkür ederim.

Tez çalışması için gerekli olan mikroorganizmanın üretilmesi ve yetiştirilmesindeki katkılarından ve desteklerinden dolayı Yrd. Doç. Dr. Sadin ÖZDEMİR ve çalışma grubuna, teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca desteğiyle sürekli yanımda olan Dr. Cezmi KAYAN'a, teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımda yardımını esirgemeyen Arş. Gör. Ersin Kılınç'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca teze emeği geçen tüm kimya bölümü çalışanlarına, teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmamda bana her türlü destek olarak zor zamanlarımda bana anlayış gösteren sevgili anneme, babama ve eşime sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	VIII
ABSTRACT	IX
ÇİZELGE LİSTESİ.....	X
ŞEKİL LİSTESİ.....	XI
KISALTMA VE SİMGELER	XII
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
2.1. Eser Elementlerin Analizi ve Zenginleştirme Yöntemleri	5
2.1.1. Eser Elementler ve Önemi	5
2.1.2. Eser Elementlerin Analizi, Tayini ve Zenginleştirme Yöntemleri	5
2.1.2.1. İyon Değişirme Yöntemi	7
2.1.2.2. Uçurma Yöntemi	8
2.1.2.3. Birlikte Çöktürme Yöntemi	8
2.1.2.4. Elektrolitik Biriktirme Yöntemi	9
2.1.2.5. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu Yöntemi	9
2.1.2.6. Katı Faz Ekstraksiyonu Yöntemi	10
- Kolon Tekniği	15
- Batch (Çalkalama) Tekniği	16
2.2. Adsorpsiyon	17
2.2.1. Fiziksel Adsorpsiyon	18
2.2.2. Kimyasal Adsorpsiyon	18
2.3. Biyosorpsiyon	19
2.4. Termofilik Bakteriler	22

2.4.1. <i>Anoxybacillus</i>	22
2.5. Amberlit XAD Reçineleri	23
2.6. Ağır Metaller	24
2.6.1. Ağır Metallerin Biyolojik, Çevresel Etkileri ve Kirliliği	25
2.6.2. Bakır (Cu).....	26
2.6.2.1. Bakırın Özellikleri ve Önemi	26
2.6.2.2. Kullanım Alanları	28
2.6.2.3. Canlı Bilimleriyle İlişkisi	28
2.6.2.4. Toksik Etkisi	29
2.7. Katı Faz Ekstraksiyonu ile Yapılan Önceki Çalışmalar	29
2.8. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi	37
2.8.1. Atomik Spektroskopi	38
2.8.1.1. Hat Genişlemesi	38
2.8.2. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi ile İlgili Genel Bilgiler	39
2.8.2.1. Işın Kaynakları	39
-Oyuk Katot Lambaları	40
-Elektrotsuz Boşalım Lambaları	40
-Yüksek Işımalı Lambalar	40
-Sürekli Işın Kaynakları	41
2.8.2.2. Atomlaştırıcılar.....	41
- Alevli Atomlaştırıcılar.....	41
- Elektrotermal Atomlaştırıcılar	42
2.8.2.3. Monokromatörler (Dalgaboyu Seçicileri)	43
2.8.2.4. Dedektörler (Alicılar)	43
2.8.3. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Girişimler	43
2.8.3.1. Kimyasal Girişimler (Engellemeler).....	44
2.8.3.2. Fiziksel Girişimler	44
2.8.3.3. Spektral Girişimler	45

2.8.3.4. İyonlaşma Girişimleri	46
2.8.3.5. Zemin Girişimleri	46
2.8.4. Zemin Düzeltme Teknikleri	46
2.8.4.1. Çift-Çizgi Zemin Düzeltme	46
2.8.4.2. Sürekli Işın Kaynağı ile Yapılan Zemin Düzeltme	47
2.8.4.3. Zeeman Etkisine Dayanan Zemin Düzeltme	47
2.8.4.4. Kaynak Self-Ters Çevirmeye Dayanan Zemin Düzeltme (Smith-Hieftje Yöntemi)	48
2.8.5. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi ile Elementlerin Kantitatif Tayini	48
2.8.5.1. Kalibrasyon Yöntemi	48
2.8.5.2. Standart Ekleme Yöntemi	49
2.8.6. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi Ölçümlerinde Kullanılan Analitik Ölçütler	49
2.8.6.1. Duyarlık	49
2.8.6.2. Doğruluk	49
2.8.6.3. Kesinlik	49
2.8.6.4. Gözlenebilme Sınırı	50
2.8.6.5. Tayin Sınırı.....	50
3. MATERYAL VE METOT	51
3.1. Kullanılan Materyaller	51
3.1.1. Atomik Absorpsiyon Spektrometresi	51
3.1.2. FTIR Spektrometresi	51
3.1.3. Analitik Terazî	51
3.1.4. pH metre	51
3.1.5. Saf Su Cihazı	51
3.1.6. Mikrodalga Çözme Cihazı	51
3.1.7. Peristatik Pompa	51
3.2. Çalışmada Kullanılan Reaktif Çözeltiler ve Hazırlanışları	52
3.2.1. Bakır Stok Çözeltisi, 1000 mg/L'lik	52

3.2.2.	Bakır Standart Çözeltileri	52
3.2.3.	Sodyum Stok Çözeltisi, 20.000 mg/L'lik.....	52
3.2.4.	Potasyum Stok Çözeltisi, 20.000 mg/L'lik	52
3.2.5.	Magnezyum Stok Çözeltisi, 20.000 mg/L'lik	52
3.3.	Etanol-Su (1:1)	52
3.3.1.	Hidroklorik Asit Çözeltisi, 4M	52
3.3.2.	Hidroklorik Asit Çözeltisi, 2M	53
3.3.3.	Nitrik Asit Çözeltisi, 2M	53
3.3.4.	Hidroklorik Asit (1, 1.25, 1.5 M).....	53
3.3.5.	Nitrik Asit (1, 1.25, 1.5 M).....	53
3.3.6.	Hidroklorik Asit (0.1, 0.25, 0.5 M).....	53
3.3.7.	Nitrik Asit (0.1, 0.25, 0.5 M)	53
3.3.8.	Sodyum Hidroksit Çözeltisi, 1M	53
3.3.9.	Sodyum Hidroksit Çözeltisi (0.01, 0.1, 0.25, 0.5 M).....	53
3.4.	Amberlit XAD-16'nın Hazırlanışı	54
3.5.	Biyolojik Materyal	54
3.6.	Kullanılan Besiyerleri	54
3.6.1.	Besiyeri Maddeleri	54
3.6.2.	Sıvı Besiyeri	54
3.6.3.	Katı Besiyeri	54
3.7.	Bakteri Üretimi	55
3.8.	Kurutulmuş Ölü Bakteri Hücrelerinin Biyosorpsiyon için Hazırlanması	55
3.9.	Mikroorganizmanın Reçineye İmmobilizasyonu	55
3.10.	Katı Faz Dolgulu Mini Kolonla Eser Element Zenginleştirilmesi	56
3.10.1.	Katı Faz Kolonunun Hazırlanması	56
3.10.2.	Katı Faz Ekstraksiyonu ile Zenginleştirme Yönteminin Optimizasyonu	56
3.10.2.1.	pH Etkisi	57

3.10.2.2. Örnek Akış Hızının Etkisi	57
3.10.2.3. Elüent Akış Hızının Etkisi	57
3.10.2.4. Elüent Türü, Derişimi ve Hacminin Etkisi	58
3.10.2.5. Biyosorpsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi	58
3.10.2.6. Örnek Çözelti Hacminin (Hacime Bağlı Zenginleştirme) Etkisi	58
3.10.2.7. Zenginleştirme Faktörü (Konsantrasyona Bağlı Zenginleştirme)	58
3.10.2.8. <i>Anoxybacillus</i> sp. SO-B1 ile Modifiye edilmiş Amberlit XAD-16'nın Biyosorbent Olarak Yeniden Kullanılabilirliği.....	59
3.10.2.9. Yabancı İyonların Etkisi	59
3.10.2.10. Yöntemin Kesinliği	59
3.10.2.11. Yöntemin Gerçek Numunelere Uygulanması	59
3.10.2.12. Standart Referans Madde (NCS-DC 73350) Analizi	60
3.10.2.13. Gözlenebilme Sınırının Belirlenmesi	60
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	61
4.1. FTIR Spektrumları	61
4.2. Katı Faz Ekstraksiyonu Yönteminin Uygulanmasında Optimum Şartların Belirlenmesi	62
4.2.1. Optimum pH.....	63
4.2.2. Optimum Örnek Akış Hızı	63
4.2.3. Optimum Elüent Akış Hızı	64
4.2.4. Optimum Elüent Türü, Derişimi ve Hacmi	64
4.2.5. Biyosorpsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi	67
4.2.6. Örnek Çözelti Hacmi (Hacime Bağlı Zenginleştirme).....	67
4.2.7. Zenginleştirme Faktörü (Konsantrasyona Bağlı Zenginleştirme)	68
4.2.8. <i>Anoxybacillus</i> sp.SO-B1 ile Modifiye Edilmiş Amberlit XAD-16'nın Biyosorbent Olarak Yeniden Kullanılabilirliği	69
4.2.9. Yabancı İyonların Etkisi	69
4. 2.10. Yöntemin Kesinliği	71
4.2.11. Yöntemin Gerçek Numunelere Uygulanması	71
4.2.12. Standart Referans Madde (NCS-DC 73350) Analizi	71

4.2.13. Gözlenebilme Sınırının Belirlenmesi	72
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	73
6. KAYNAKLAR	79
ÖZGEÇMİŞ	91

ÖZET

ANOXYBACILLUS sp. SO-B1 İLE MODİFİYE EDİLMİŞ AMBERLİT XAD-16 KULLANILARAK Cu(II) İYONUNUN BİYOSORPSİYONU VE ÖNDERİŞTİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Zehra AKSOY

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

2011

Bu çalışmada, Cu(II) iyonlarının katı faz ekstraksiyonu yöntemiyle zenginleştirilmesi ve alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayini gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, Amberlit XAD-16 reçinesine immobilize edilmiş *Anoxybacillus* sp. SO-B1 bakterisi mini bir kolona doldurulmuş ve katı faz olarak kullanılmıştır. Yöntemin optimizasyonu için, çözelti pH'sı, çözelti ve elüent akış hızları elüent tipi, derişimi ve hacmi, örnek çözelti hacmi ve yabancı iyonların etkisi gibi analitik parametrelerin Cu(II) iyonlarının geri kazanım verimleri üzerine etkisi incelenmiştir. Bakır için biyosorbent adsorpsiyon kapasitesi araştırılmıştır. Deneysel çalışmalar boyunca pH 7.0'de çalışılmış ve 5 mL 1 M HCl ile elüasyon gerçekleştirilmiştir. Cu(II) iyonlarının kolonda tutunmasında ve elüasyonunda kantitatif değerler elde edilmiştir.

Deneysel olarak belirlenen optimum çalışma koşullarında Cu(II) iyonlarının geri kazanım verimleri $100,88 \pm 1.57$ olarak belirlenmiştir (N=5). Alevli AAS ile tayinlerde gözlenebilir sınır Cu(II) için 0.16 µg/L olarak bulunmuştur (N=10). Yöntemin gerçek numunelere uygulanabilirliğini araştırmak için Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Cl⁻ ve NO₃⁻ gibi bazı matriks iyonlarının geri kazanım verimine etkisi incelenmiştir.

Geliştirilen metod, Dicle Nehir suyu, Elazığ Maden Çayı suyu, Hazar Gölü suyu ve musluk suyu gibi gerçek örneklerde Cu(II) iyonlarının tayini için uygulanmıştır. Geliştirilen metodun doğruluğu standart referans madde analiz edilerek kontrol edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Amberlit XAD-16, *Anoxybacillus* sp. SO-B1, Biyosorpsiyon, FAAS

ABSTRACT

BIOSORPTION AND PRECONCENTRATION OF Cu(II) ION USING AMBERLITE XAD-16 MODIFIED BY *ANOXYBACILLUS* sp. SO-B1

MSc THESIS

Zehra AKSOY

DİCLE UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

2011

In the present study, Cu(II) ions were enriched by solid phase extraction method and determined by Flame Atomic Absorption Spectroscopy. For this aim, *Anoxybacillus* sp. SO-B1 bacterium, immobilized in Amberlite XAD-16 resin, was filled in a mini column and this was used as the solid phase. In order to optimize the method, effect of some analytical parameters, such as pH of the solution, flow rate of the solution and the eluent, type, concentration and volume of the eluent, volume of the sample solution on recovery yield of Cu(II) ions were investigated. Furthermore, adsorption capacity of the biosorbent was studied for copper. Experimental studies was carried out at pH 7.0 and eluation was performed with 5 mL of 1 M HCl. Quantitative values were obtained in adsorption of Cu(II) ions and also in its eluation.

In the optimum conditions, recovery yields of Cu(II) ions were found to be 100.88 ± 1.57 (N=5). In determination by AAS, limit of detection for Cu(II) was found to be 0.16 µg/L (N=10). In order to investigate applicability of the method to real samples, influence of several matrix ions Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Cl⁻ and NO₃⁻ etc. on recovery yield was studied.

The developed method was applied to real samples such as Tigris River water, Elazığ Maden Stream water, Hazar Lake water and tap water for determination of Cu(II) ions. Accuracy of the method was checked by analysing standard reference material.

Keywords: Amberlite XAD-16, *Anoxybacillus* sp. SO-B1, Biosorption, FAAS

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Amberlit XAD-16 reçinesinin spesifik özellikleri	24
Çizelge 2.2. Bakırın özellikleri	26
Çizelge 2.3. Alev türleri	42
Çizelge 4.1. Cu(II) iyonlarının 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 1.25 ve 1.5 M HCl ile 2,5 ve 10 mL hacimler kullanıldığı zaman elde edilen geri kazanım verimleri	65
Çizelge 4.2. Cu(II) iyonlarının 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 1.25 ve 1.5 M HNO ₃ ile 2,5 ve 10 mL kullanıldığı zaman elde edilen geri kazanım verimleri	66
Çizelge 4.3. Bakterinin biyosorpsiyon kapasitesi tayini	67
Çizelge 4.4. Reçinenin biyosorpsiyon kapasitesi tayini	67
Çizelge 4.5. Örnek çözelti hacminin geri kazanım verimine etkisi	68
Çizelge 4.6. Cu(II) iyonlarının zenginleştirme faktörleri	69
Çizelge 4.7. Cu(II) iyonlarının geri kazanılmasında yabancı iyonların etkisi	70
Çizelge 4.8. Optimum koşullardaki Cu(II) iyonlarının geri kazanım veriminin tekrarlanabilirliği	71
Çizelge 4.9. Çeşitli doğal su örneklerinde Cu(II) iyonlarının tayini	71
Çizelge 4.10. Standart referans madde (NCS-DC 73350)'de Cu(II) iyonlarının tayini	72

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Katı faz özütleme yöntemi	15
Şekil 2.2. Hücre zarında metallerin tutunma bölgeleri	20
Şekil 2.3. Polistiren-divinilbenzen temelli reçinelerin kimyasal yapısı	24
Şekil 2.4. İşlenmemiş bakır	28
Şekil 2.5. AAS'nin blok şeması	39
Şekil 2.6. Oyuk katot lambası	40
Şekil 2.7. Atomlaştırıcılar	41
Şekil 4.1. Amberlit XAD-16 IR spektrumu	61
Şekil 4.2. <i>Anoxybacillus</i> sp. SO-B1 IR spektrumu	61
Şekil 4.3. <i>Anoxybacillus</i> sp. SO-B1 ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 reçinesi	62
Şekil 4.4. Biyosorbe edilmiş modifiye reçine Cu(II)	62
Şekil 4.5. Cu(II) iyonlarının % geri kazanımına pH'ın etkisi	63
Şekil 4.6. Cu(II) iyonlarının % geri kazanımına örnek akış hızının etkisi	64
Şekil 4.7. Cu(II) iyonlarının geri kazanılmasında örnek çözelti hacminin etkisi	68
Şekil 4.8. Cu(II) iyonlarının geri kazanılması çalışmalarında biyosorbentin yeniden kullanılabilirliği	69

KISALTMA VE SİMGELER

AAS	:	Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
BSS	:	Bağıl Standart Sapma
CCD	:	Charge Coupled Device
Cu	:	Bakır
FAAS	:	Alevli (flame) Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
FT-IR	:	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
ICP	:	İndüktif Eşleşmiş Plazma (Inductively Coupled Plasma)
Kd	:	Dağılım Katsayısı
Kfe	:	Katı Faz Ekstraksiyonu
LOD	:	Limit Of Detection
LOQ	:	Limit Of Quantification
NB	:	Nutrient Broth
PAA-E	:	Poliakrilik Asit Esterleri
ppb	:	parts per billion (milyarda bir)
ppm	:	parts per million (milyonda bir)
PS-DVB	:	Polistiren-Divinilbenzen
SPE	:	Solid Phase Extraction
SRM	:	Standart Referans Madde

1. GİRİŞ

Teknolojik gelişmelerin, sanayileşmenin ve sosyal yaşamın insanlığa kazandırdığı sayısız faydaların yanı sıra, istenmeyen durumları da vardır. Sanayi alanındaki hızlı gelişmelerin bir sonucu olarak oldukça yüksek miktarlarda toksik ve kirletici maddeler çevreye her geçen gün daha da fazla verilmekte ve meydana gelen kirliliğin boyutlarının hızla artmasına neden olmaktadır.

Özellikle endüstriyel faaliyetlerden, tarımsal faaliyetlerden, madencilikten, plânsız şehirleşmeden ve evsel atıklardan çevreye yayılan eser düzeydeki ağır metaller zamanla doğada birikirler. Bu oluşum önemli bir çevresel kirliliktir. Çevrede ve atmosferde bulunan eser elementler, girdikleri tepkimeler sonucu, gösterdikleri zararlı etkiler nedeniyle günümüzde birinci derecede kirleticiler arasında bulunmaktadır. Bu sorunlar ekolojik çevrede yaşayan canlıların sağlığını tehdit ederek gelecek kuşakları da etkileyecek duruma gelmektedir. İşte bu yüzden eser elementlerin çevre ve insan sağlığı açısından tayini oldukça önemlidir. Canlılar için hayati öneme sahip bir element, çevre kirliliğinin artması sonucu vücuda biraz yüksek dozda alınması durumunda canlıların besin zincirine girerek organizma üzerinde toksik etki yapabilmektedir. Ancak bu elementlerin oldukça toksik olmalarının yanında eser düzeydeki miktarlarının da canlı organizmalar için faydalı oldukları da göz ardı edilmemelidir. Mesela demir, bakır, mangan, çinko, krom gibi elementler canlılar için gereklidir (Aydın 2008). Geçiş metallerinin toksik etkisi ya da yararları, metal iyonlarının derişimleri, yükseltgenme basamakları ve kompleks yapıda bulunup bulunmaması gibi çeşitli faktörlere göre değişir.

Çevre sorunlarının temelinde su, toprak ve havadan en az birinin kirlenmesi yatmaktadır (Özkan 2007). Ağır metaller çevresel su örneklerinde (nehir suyu, göl suyu, deniz suyu gibi) genellikle eser düzeylerde (mg/L ya da µg/L) bulunurlar. Bu nedenle su, biyolojik dokular, gıda, çevre gibi örneklerde eser metallerin tayini ve bu tayinler için yöntemlerin geliştirilmesi analitik kimya dalının en yaygın çalışma konularından biri haline gelmiş ve günümüzde de bu konu ile ilgili çalışmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir.

Eser düzeylerdeki ağır metallerin modern enstrümental cihazlar ile doğrudan tayini, hem düşük konsantrasyonlarda bulunmasından hem de ortam bileşenlerinin

girişimlerinden dolayı sorunludur. Bu yüzden, eser elementlerin analizden önce bir ayırma/zenginleştirme işlemine tabi tutulması oldukça önemli bir gereksinimdir. Bu yöntemler arasında ekstraksiyon, adsorpsiyon ve birlikte çöktürme yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır.

Eser element analizlerinde kullanılan katı-sıvı ekstraksiyon tekniği, ucuz, kolay ve hızlı olması nedeniyle oldukça çok ve sık kullanılan bir tekniktir. Aynı zamanda bu teknik ile yapılan analizlerde büyük örnek hacimleri ile çalışılabilmesi ve en önemlisi yüksek zenginleştirme faktörü elde edilebilmesi gibi oldukça önemli avantajlar sağlanmaktadır. Bu yöntemde analit doğrudan model çözelti ortamına ilave edilerek, kolon içerisine yerleştirilmiş uygun kolon dolgu maddesinden geçirilmektedir. Kolonda tutunan iyon uygun bir elüasyon çözeltisi ile elüe edildikten sonra elüasyon çözeltisinin içeriği atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS) vb. enstrümental yöntemlerle tayin edilmektedir (Tunçeli 1998, Kara 2006).

Eser metal iyonlarının katı faz ekstraksiyonu ile zenginleştirme çalışmalarında immobilizasyon tekniği günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Eser metal iyonlarının immobilizasyon ile zenginleştirilmesi çalışmalarında, kolon dolgu maddesi olarak birçok doğal ve yapay maddeler kullanılmaktadır. Bunlar arasında mikroorganizma (alg, mantar, maya, bakteri) silikajel, naftalin, sepiolit, çok yüzeyli karbon nanotüp, Amberlite XAD türü reçineler vb. sayılabilir. Bunun yanında modifiye edilmiş iyon değiştirici reçineler de ağır metallerin uzaklaştırılması ve önderiştirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemlerde genelde adsorbentler ve reçineler tek başlarına kullanılmış olup pek verimli sonuçlar alınamamıştır.

Son yıllarda ağır metal giderimi için düşük maliyetli biyosorbentler geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır. Sıvı çözeltideki ağır metallerin biyosorpsiyon yöntemi ile giderilmesi ve geri kazanılması, alternatif bir teknoloji olabilmektedir (İleri ve ark. 1994, Veglio ve Beolchini 1997, Volesky 1999, Volesky 2004). İmmobilize mikroorganizmaların, serbest mikroorganizmalara göre; kullanım süresi, mekanik dayanıklılık ve çözelti ortamından kolay ayrılması gibi üstünlükleri vardır (Mizuke 1986, Soylak 1993, Atanassova ve ark. 1998). Mikroorganizmalar, yüzeyleri negatif yüklü olduğundan dolayı, pozitif yüklü metal iyonlarını adsorbe ederler ve

zenginleştirme çalışmalarında oldukça etkindirler (İleri ve Mavituna 1991, Volesky 2004, İleri ve Çakır 2006).

Bu çalışmanın amacı ağır metal giderimi için ucuz ve verimli biyolojik çözümler üretmektir. Bu amaçla çalışmamızda, *Anoxybacillus* sp. SO-B1 bakterisi ile Amberlit XAD-16 reçinesi modifiye edilerek bir dolgu kolonu hazırlanmış ve FT-IR spektrumu ile karakterizasyon işlemi yapılmıştır. Bu kolon içerisinde, çevre kirliliğinin önemli bir kısmını oluşturan (eser derişimdeki ağır metallere biri olan) bakır iyonları geçirilerek bu iyonların çözümden ayrılması ve önderiştirilmesi amaçlanmıştır.

Belirli konsantrasyonlarda hazırlanan ve bakır iyonlarını içeren model örnek çözümlerin, kolondan belirli koşullarda geçirilmesi, eser düzeydeki bu metalin tayin edilmesi için metod geliştirilmesi ve belirtilen element için optimum zenginleştirme koşullarının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla ayırma ve önderiştirme verimine pH, çözümlü ve elüent akış hızı, elüent tipi, derişimi ve hacmi, biyosorpsiyon kapasitesi, örnek çözümlü hacmi gibi parametrelerin etkileri incelenmiştir.

Geliştirilen metod optimum koşullarda Dicle Nehri, Elazığ Maden Çayı, Hazar Gölü ve musluk suyu örneklerine uygulanmıştır. Geliştirilen zenginleştirme yönteminin hem doğruluğunu hem de uygulanabilirliğini göstermek amacıyla yöntem standart referans maddeye (NCS-DC 73350) uygulanmıştır. Yöntem istatistiksel olarak değerlendirilerek gözlenebilirlik sınırı ve kesinlik değerleri belirlenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Eser Elementlerin Analizi ve Zenginleştirme Yöntemleri

2.1.1. Eser Elementler ve Önemi

Eser element, bir sistemde diğer bileşenlere göre çok az bulunan elementlere denir. Başka bir deyişle, mg/L (ppm) veya µg/mL (ppb) düzeyindeki (% 0.01'den daha düşük derişimler) element derişimi olarak tanımlanır.

1940 yılına kadar eser element derişimi %10⁻¹-10⁻² olarak bilinirken 1950'li yıllarda %10⁻³-10⁻⁵, 1960'lı yıllarda %10⁻⁶-10⁻⁸ olarak kabul edilmiştir. Günümüzde ise %10⁻²-10⁻⁶ derişim aralığı eser, %10⁻⁶'nın altındaki derişimler ise ultra-eser olarak kabul edilmektedir (Baytak 2003).

Son yıllarda analitik kimyanın önemli dalı haline gelen eser element analizleri, eser elementlerin değişik alanlardaki fonksiyonları anlaşıldıkça önem kazanmıştır. Örneğin, eser elementler canlı organizmalar için çok önemlidir. Hava, su ve toprak kirlenmesi, bu kirlenmenin canlılar üzerindeki olumsuz etkileri gibi çevre sorunlarının giderek önem kazanması eser element tayinlerinin önemini daha da arttırmaktadır. Buna karşılık bazı elementler, canlının sağlıklı bir şekilde yaşamını sürdürebilmesi için gereklidir ve yaşamsal öneme sahip bu eser elementlerin canlı tarafından alınması gerekir. Eser elementlerin yetersiz miktarda alınmaları çeşitli hastalıklara sebep olurken, bazı metallerin aşırı miktarda alınması ise canlılar üzerinde zararlı etki gösterebilir.

Eser elementlerin vücut ve sağlıklı yaşam için gerekli derişim aralıkları günümüzde gelişen modern analitik ve spektroskopik analiz yöntemleri ile saptanabilmektedir (Aydın 2008).

2.1.2. Eser Elementlerin Analizi, Tayini ve Zenginleştirme Yöntemleri

"Eser element analizi", organik ve inorganik örneklerde ppm (mg/L) ve ppb (µg/L) derişim düzeyinde bulunan elementlerin tayini olarak tanımlanabilir. Eser analiz daha geniş anlamda kullanılmakta olup, eser düzeydeki inorganik ve organik bileşiklerin tayinlerini kapsamaktadır (Varhan Oral 2009).

Eser elementlerin analizlerinin yapılabilmesi için buldukları ortamda bazı ayırma ve zenginleştirme işlemlerine tabi tutulmaları gerekir. Bu işlemler eser elementlerin tayini için oldukça önemlidir.

Metaller, mineraller, bileşikler, çözeltiler, biyolojik ve organik maddeler vb. çeşitli ortamlarda bulunan eser elementlerin analizlerinin yapılabilmesi, analiz yöntemine bağlı olarak yeterli sinyalin alınabilmesi ve eser elementlerin konsantrasyonlarının da belli bir düzeyin üzerinde olmasıyla mümkündür.

Eser elementlerin tayini nükleer, elektroanalitik, kromatografik ve yaygın olarak spektroskopik yöntemlerle yapılmaktadır. Spektroskopik yöntemler içerisinde, spektrofotometri ve AAS, bağıl olarak ucuzlukları ve pratik olmaları sebebiyle daha çok kullanılmaktadır (Varhan Oral 2009).

Eser metallerin genelde modern spektroskopik aletlerle doğrudan tayini genelde zordur. Eser elementin içinde bulunduğu ortamın tayin tekniğine uygun olmaması, yani ortamın bozucu etki göstermesi ve bu ortamda eser element derişiminin aletin tayin sınırının altında olması halinde zenginleştirme işlemi kaçınılmazdır (Şeren 2000). Zenginleştirme, büyük hacimdeki örneklerde, analiz metodunun duyarlılığının altındaki çok küçük derişimlerde bulunan bileşenlerin daha küçük hacime büyük bir verimle alınarak ölçülebilecek yüksek derişimlere çıkarılması işlemine denir (Timur 2009). Zenginleştirme işlemleri ile analit hem tayin tekniğine uygun olan ortama alınır hem de daha küçük hacim içerisinde toplanarak deriştirilir.

Eser analizde kullanılan zenginleştirme yöntemleri ile tayin basamağında şu kolaylıklar sağlanmış olur:

Eser element derişimi artırılarak, yöntemin tayin kapasitesi artırılır. Eser elementler uygun ortama alındığından ortamdan gelebilecek girişimler giderilir. Böylece yöntemin duyarlılığı artar. Büyük numune miktarları ile çalışılabildiğinden, örneğin homojen olmayışından gelebilecek hatalar önlenir. Standartlar ile numune matriksini benzetmek kolaylaşır. Çünkü ayırma ile eser elementler bilinen matriks içine alınır. Bunun sonucu doğruluk artar. Bozucu etki gösteren matriks, uygun matriks ile yer değiştirdiği için zemin girişimleri azalır, seçimlilik artar (Erdoğan 2005).

Eser element analizinde kullanılan zenginleştirme yöntemlerinin değerlendirilmesinde en önemli parametreler;

- Geri kazanma verimi
- Zenginleştirme katsayısı
- Uygulanabilirlik (Referans standart maddelere)
- Numunenin miktarı

Yaygın olarak kullanılan başlıca eser element zenginleştirme yöntemleri;

1. İyon değiştirme,
2. Uçurma,
3. Birlikte çöktürme,
4. Elektrolitik biriktirme,
5. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu,
6. Katı faz ekstraksiyonudur (Varhan Oral 2009).

2.1.2.1. İyon Değiştirme Yöntemi

İyon değiştirme, bir katı maddenin yapısında bulunan iyonların, temasta bulunduğu çözelti içerisinde pozitif iyonların pozitif iyonlarla negatif iyonların negatif iyonlarla karşılıklı olarak yani aynı cinsten yüklü başka iyonlarla bir dengeye göre yer değiştirmesi esasına dayanır (Arce ve ark. 1999, Bae ve ark. 1999, Novic ve Gucek 2000, Novic ve ark.2001).

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

İyon değiştiriciler genel olarak toz halinde, gözenekli, çözünür olmayan polimerik bileşiklerdir. Sağlam bağlı organik fonksiyonel gruplar içerirler. İçerdikleri fonksiyonel gruplara göre iyon değiştiriciler anyon ve katyon olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Bu fonksiyonel gruplara bağlı iyonlar (katyon veya anyonlar) çözeltideki

iyonlarla yer değiştirir. Katyon değiştiren reçinelere katyonik (veya asidik) reçine, anyon değiştirenlere anyonik (veya bazik) reçine denir (Dalman 2003).

İyon değiştiricilerin sürekli olarak kullanılabilirlik özelliği zenginleştirme yöntemlerinde ve diğer alanlarda yaygın olarak kullanılmasına olanak sağlamıştır. İyon değiştirme yönteminde en önemli ve belirgin özellik iyon değişimi esnasında iyon değiştiricinin yapısının değişmemesidir (Duran 2000). İyon değiştirme yöntemi ile büyük hacimli çözeltiler iyon değiştirici reçineden geçirilirken, eser elementlerin seçimli olarak tutulmaları sağlanır. Tutulan elementler örnek çözeltilisine göre daha küçük hacimli bir elüent ile ikinci faza alınarak zenginleştirilir.

İyon değiştirici seçiminde; saflık, fonksiyonel grupların seçimliliği, iyon değişim kapasitesi, değişme hızı, geri kazanılabilirlik, kimyasal ve fiziksel etkilere karşı direnç önemli etkenlerdendir.

2.1.2.2. Uçurma Yöntemi

Eser elementlerin bulunduğu çözücü (genelde su) bir şekilde ortamdan uzaklaştırılarak elementin daha küçük hacimde deriştirilmesi sağlanır. Bu yöntem kolay ve kimyasal reaktif ilavesi gerektirmediği için kirlenme riski düşüktür (Duran 2000).

Kolay uçucu veya kolaylıkla uçucu bileşenlerine dönüştürülebilen bazı elementler için son derece uygun bir yöntemdir. Uçurma ile zenginleştirmede matriks ile eser element arasında uçuculuk farkının büyük olması gerekir. Uçurma ile ayırma işlemi hem matriks hem de eser element uçurularak iki şekilde yapılabilir. Prensipte olarak hangisi daha uçucu ise o uçurulur (Leyden ve Wegschekder 1981). Ancak inorganik analizde metallerin uçurma ile zenginleştirilmeleri yaygın değildir (Mataix ve Luque de Castro 2001, Liu ve ark. 2002).

2.1.2.3. Birlikte Çöktürme Yöntemi

Çöktürme, en eski ayırma metotlarından biridir ve hala inorganik eser analizlerde zenginleştirme tekniği olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Çöktürme metotlarının, elementlerin ayrılmasında kullanımı sulu çözeltilerde bileşiklerin çözünürlüklerinin farklı olmasına dayanır. Çöktürme sıvı fazda çözünen maddeleri, oluşturulan çökelek üzerinde safsızlık olarak toplanmaları biçiminde tanımlanır. Bu

olayın mekanizması; hapsedme, karışık kristal oluşumu ve adsorpsiyon ile açıklanır. İnorganik veya organik karakterli büyük yüzeyli çökelek oluşturularak, eserlerin bu çökelek yüzeyinde adsorplanması sağlanır. Çöktürme yöntemleri çoğunlukla eser elementlerin tek başına ayrılmasında kullanıldığı gibi, ana bileşenin eser bileşenlerden ayrılmasında da kullanılır. Çöktürme pH'sı denetlenerek seçimlilik sağlanır. Ana bileşeni eser bileşenden ayırmak için çöktürme işleminin kullanılması yaygın değildir. Çünkü ana bileşen çökerken eser bileşenleri de sürükleyip birlikte çöktürebilir. Bu da madde kaybına yol açar (Leyden ve Wegschekder 1981).

Bu teknik, deniz suyu ve atık sulardaki eser elementlerin zenginleştirilmesinde, yüksek saflıktaki metaller ve diğer inorganik katı örneklerde ng/g veya µg/g'ın altındaki seviyelerde bulunan eser safsızlıkların deriştirilmesinde, radyokimyasal ayırmalarda (izotopik veya izotopik olmayan taşıyıcılarla) yaygın olarak kullanılmaktadır (Şeren 2000).

2.1.2.4. Elektrolitik Biriktirme Yöntemi

Elektroanalitik kimyada temel olarak potansiyel kontrollü elektrolize dayanan birçok teknik kullanılmaktadır (Zolotov ve Kuz'min 1990). Bu tekniklerde çok düşük derişimlerdeki (µg veya daha düşük) çözeltilerden iyonların nicel olarak ayrılması mümkündür. Ayrıca bu yöntemin çok seçici olması değişik ortamlardan istenen iyonun kolayca ayrılabilmesini sağlar. Elektrotun türü ve şekli, elektroliz hücresi, elektrolit ve örneğin bileşimi ve diğer deneysel değişkenle bir elementin elektrolitik biriktirilmesine büyük ölçüde etki eder. Eser elementlerin zenginleştirilmesinde, en çok kullanılan yöntem, potansiyel kontrollü elektroliz yönteminin yanı sıra sıyırma yöntemleri de yaygın olarak kullanılır.

Uygun şartlar sağlanarak katı bir çalışma elektrodu üzerinde elektrolizle eser derişimdeki ağır metaller toplanabilir. Elektrotta toplanmış olan ağır metaller anodik sıyırma veya çözme, kimyasal ve fiziksel işlemlerle çözme veya ayırma yöntemleri ile geri alınır.

2.1.2.5. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu Yöntemi

Ekstraksiyon, kimyasal bir bileşimin bir sıvı fazdan bununla karışmayan başka bir sıvı faza geçmesi işlemidir. Ekstraksiyon yöntemi eser element analizinde kullanılan

zenginleştirme yöntemleri arasında basitliği, geniş ve hızlı uygulanabilirliği sebebiyle önemli yer alır (Kojima ve Takayanagi 1996, Dapaah ve Ayame 1998, Okamoto ve ark. 2000, Eskandari ve ark. 2001, Kara ve Alkan 2002).

Eser element uygulamalarında sıvı-sıvı ekstraksiyon yönteminin bir fazı genellikle su diğer fazı ise su ile karışmayan bir organik çözücüdür. Sıvı-sıvı ekstraksiyon yönteminin iki uygulama şekli vardır. Bunlardan birincisi ana bileşen ortamdaki uzaklaştırılırken, ayrılması istenen tür sulu fazda kalır. İkinci uygulama ise sulu fazdaki eser elementler çoğunlukla şelatları veya değişik iyonik kompleksleri şeklinde organik faza geçirilirler. Herhangi bir bileşenin su fazından organik faza geçmesi bir denge olayıdır. Ekstraksiyon verimi, dağılım katsayısı (Kd), sulu fazdan organik faza geçen madde miktarının büyüklüğü olarak tanımlanır. Sıvı-sıvı ekstraksiyon işleminde seçicilik, pH, sulu fazdaki yan tepkimeler, ligant, çözücü türü ve sıcaklık gibi değişkenlerden yararlanarak sağlanır (Stafiej ve Pyrzynska 2008).

2.1.2.6. Katı Faz Ekstraksiyonu Yöntemi

Katı faz ekstraksiyonunun temeli sulu faz içinde bulunan analitlerin katı faz üzerinde tutunması esasına dayanır. 1978 yılına kadar çözücü değiştirme, örnek deriştirme ve örnekten arzu edilmeyen bileşenlerin uzaklaştırılması için sıvı-sıvı ekstraksiyonuna ihtiyaç duyulmaktaydı. Örnek, karışmayan çözücülerle bir ayırma hunisinde elle sallanmakta ve ayrılmaktaydı. Bu işlem kişilerin becerilerine bağlıydı. Ayrıca tehlikeli çözücüler de sık sık kullanılmaktaydı. Bütün bunlara karşın çok ta seçici değildi. Sıvı-sıvı ekstraksiyonunun diğer dezavantajları, sallama ile oluşan ve ayrılması zor emülsiyonlar, tek dozluk atıklar ve çeşitli cam madde ihtiyacıdır. Kullanılan iki sıvının birbiri içinde çözünmemesi gerekir. Bu ise kullanılacak çözücü sayısını sınırlar. Örneğin, metanol, ekstraksiyon için ideal bir çözücü olabilir. Fakat su ihtiva eden özel bir örnekte iki ayrı sıvı faz teşkil etmek yerine karışabilirler. Katı faz ekstraksiyon (kfe), sıvı-sıvı ekstraksiyon ile karşılaştırıldığında daha az çözücü kullanılması, daha az zaman alması, daha düşük maliyetli olması gibi bazı avantajlara sahiptir. Ayrıca sıvı-sıvı ekstraksiyonunda çözücünün yeterince uzaklaştırılmaması ve duyarlı kantitatif sonuçlar elde edilememesi gibi istenmeyen durumlar katı faz ekstraksiyonuna yönelmeyi gerekli kılmıştır (Dalman 2003). Temiz kullanım ve daha fazla tekrarlanabilirliği olan XAD reçineleri ve C-18 bağlı polimerik yapılar gibi

adsorbanların kullanımı bu alana olan ilgiyi arttırmıştır. Bu tekniğe artan ilginin en önemli sebebi çok geniş adsorban seçimidir.

Katı faz ekstraksiyonu ile zenginleştirme genellikle çok iyi seçicilik ve yüksek zenginleştirme katsayıları sağlar. En az düzeyde örnek transferi yapıldığından yüksek geri kazanımlar ile yüksek yoğunluk ve saflıkta örnekler elde edilebilmektedir. İşlem kolay ve rahatça kontrol edilebilir. Karmaşık deney düzenekleri ve yüksek sıcaklıklara gerek duyulmaz. Ayrıca katı faz ekstraksiyon işlemleri akışa enjeksiyon tekniği ile kolaylıkla kombine edilebilmektedir. Bu nedenle on-line zenginleştirme tekniklerinde önemli kolaylıklar ve üstünlükler sağlamaktadır. Katı faz ekstraksiyon yönteminde elüent olarak inorganik ve organik sıvı çözeltiler kullanılır. Kolonda alıkonan analitler organik veya inorganik çözücü elüentin küçük bir hacmi ile alınır. Bu hacim 10 mL'yi geçmez. Çözücü ve örneklerin az miktarlarda kullanılmasından dolayı zehirli maddelerle temas daha azdır ve ayrıca daha az cam malzeme kullanılması nedeniyle analizi yapanlar için oldukça güvenli bir metottur. Ayrıca çevreyi kirletme riski daha düşüktür (Yavuz ve Aksoy 2006).

Prensip olarak sıvı-sıvı ekstraksiyonuna benzer olan katı faz ekstraksiyonda (sıvı-katı ekstraksiyonu olarak ta bilinir) fazlardan biri katı diğeri sıvıdır ve bu fazlar arasında ki etkileşime dayanır. Yöntem, genellikle sıvı haldeki örneğin analitleri tutan bir katı içeren bir kolon, kartuş ya da diskten geçirilerek uygulanır. Örneğin tamamı katı fazdan geçirildikten sonra analitler uygun bir çözücü kullanılarak elüe edilir (Ercan 2008). Metal iyonlarının adsorban üzerine tutunduktan sonra, uygun bir elüent kullanılarak adsorban üzerinden elüe edilmesiyle analiz edilirler.

Katı faz özütleme metodunda, analit iyonları kolondan geçerken adsorban ile arasında kimyasal bir etkileşim meydana gelir. Bu etkileşim iki şekilde gerçekleşebilir. Birinci yöntemde analiz edilecek bileşen adsorbana bağlanarak kolon içinde tutunurken, çözücü ve istenmeyen bileşenler bu madde ile herhangi bir etkileşime girmezler. Daha sonra istenmeyen bileşenler uygun yıkama çözücüsü ile yıkanarak uzaklaştırılırken, adsorbana tutunmuş analit iyonları uygun bir çözücü yardımıyla çözülerek alınır. Daha sonra analit iyonları uygun bir elüent ile elüe edilerek, hem daha uygun bir ortam içine alınmış, hem de deriştirilmiş olurlar. Daha az tercih edilen ikinci yöntemde ise, istenmeyen madde adsorban ile etkileşerek kolonda tutunur. Özellikle atık yağlar gibi

matriksten ayrılması zor olan maddelerin analizinde kullanılan bu yöntemde, matriksteki istenmeyen bileşenler adsorban tarafından tutulur. Asıl aranan madde ise adsorban ile herhangi bir etkileşime girmez. Daha sonra uygun bir çözelti yardımıyla çözülerek toplanır. Burada adsorban filtre görevi görür (Yavuz ve Aksoy 2006).

Katı faz üzerinde eser elementlerin tutunmasında fiziksel ve kimyasal adsorpsiyon, iyon değiştirme ve kompleks oluşumu etkili olabilir. Bu mekanizmalar katı faz karakterine ve eser elementin kimyasal yapısına bağlıdır. Katı faz özütleme mekanizmaları, analiz edilecek madde çözücü ve adsorbanın özelliklerine göre değişiklik gösterir ve en iyi kantitatif sonuç bu üç kriterin birbiriyle tam bir uyumu sağlandığında gerçekleşir. Yani analiz edilecek maddeye göre uygun adsorban ve çözücü seçilmesi gerekir (Uluözlü 2010).

Katı faz ekstraksiyon metodunda maddelerin birbirinden ayrılması, analizi yapılacak maddenin molekülleri ile adsorban maddedeki etkin grupların etkileşimine dayanmaktadır. Analizi yapılacak madde molekülleri adsorban maddedeki etkin gruba iyonik, hidrojen, dipol-dipol, dipol-indüklenmiş dipol ve indüklenmiş dipol indüklenmiş dipol (van der Waals) bağları ile bağlanır. Bu şekilde analit iyonları, matrikste girişim yapabilecek istenmeyen bileşenlerinden ayrılmış olur (Zief 2005).

Katı faz ekstraksiyon yönteminde katı faz olarak genellikle adsorplama kapasitesi yüksek adsorbanlar kullanılır. Bunlar ticari ve doğal adsorbanlar olabilir. Günümüzde en çok ucuz, kolay bulunabilen, yüksek kapasiteli ve özellikle özel olarak sentezlenmiş adsorbanlar kullanılmaktadır. Adsorban olarak en çok kullanılan mineraller C_8 veya C_{18} organik gruplarla zincirlenmiş silikalardır. Diğer taraftan katı faz ekstraksiyonunda en çok kullanılan organik sorbentlerden biri gözenekli polistirendir. Amberlit XAD şelatlanmış reçineler, naftalin içeren çeşitli katı faz ekstrantları, aktif karbon, iyon değiştirici reçineler, çeşitli polimerler, C60-70, silika jel, eser miktardaki ağır metal iyonlarının önderiştirilmesi ve ayrılması için kullanılmaktadır. (Narin ve ark. 2000, Saraçoğlu ve Elçi 2002, Tüzen ve ark. 2005).

Ayrıca son yıllarda oldukça yaygın olarak hem doğal ve hem de laboratuarlarda üretilmiş adsorbanlarında kullanıldığını görmekteyiz. Bunlara örnek olarak mikroorganizmalar, likenler, yosunları verebiliriz. Bunların çok tercih edilmelerinin nedeni maliyeti oldukça düşük ve bazıları doğadan kolayca elde edilebilmektedirler.

Ayrıca bunların bir kaçının karıştırılmasıyla da adsorbanlar elde edilerek kantitatif sonuçlar alınmaktadır. Mesela ticari bir adsorbana ligant yerine üretilmiş bir mikroorganizma tutturularak zenginleştirme çalışmaları gerçekleştirilmektedir (Uluözlü 2010).

Adsorplama gücü yüksek olan katılarda adsorban üzerinde tutunan madde miktarı, yüzey büyüklüğü ve gözenekli yapıya bağlı olarak değişir. Örneğin, toz halindeki katılarda yüzey büyüklüğü sebebiyle adsorplama kapasitesi artış gösterir. Bu sebeple tanecik büyüklüğü önemlidir. Ayrıca adsorpsiyon kapasitesi, adsorban maddelerin uğradıkları ön işlemlere de (aktivasyon işlemi gibi) bağlıdır. Örneğin, basınç altında üzerinden su buharı geçirilmek suretiyle ısıtılmış olan kömür, bu işlemi görmemiş olan kömüre göre çok daha aktiftir. Adsorban üzerinde tutunan madde miktarı adsorbandaki safsızlıklardan da etkilenir. Adsorban içindeki safsızlık, adsorbanın fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştireceğinden adsorplanan madde miktarını da değiştirir. Kısaca adsorban maddede aranan özellikler:

- Asit ve bazlara karşı dayanıklılık,
- Geniş yüzey alanı,
- Geniş bir pH aralığında ekstraksiyon,
- Hızlı ve kantitatif adsorpsiyon ,
- Hızlı ve kantitatif elüasyon,
- Yüksek kapasite,
- Tekrar tekrar kullanılabilirlik,
- Ucuzluk ve kolay bulunabilirliktir.

Adsorpsiyon olaylarında adsorban maddenin özelliği önemli olduğu kadar adsorblanan maddenin elektriksel yükü, polaritesi, iyon ve molekül çapları, kullanılan çözücünün özelliği, çözücü ve adsorban arasındaki etkileşimler de önemli diğer faktörler arasındadır (Hennion 1999).

Katı faz ekstraksiyon yöntemi dört basamaktan oluşmaktadır (Şekil 2.1);

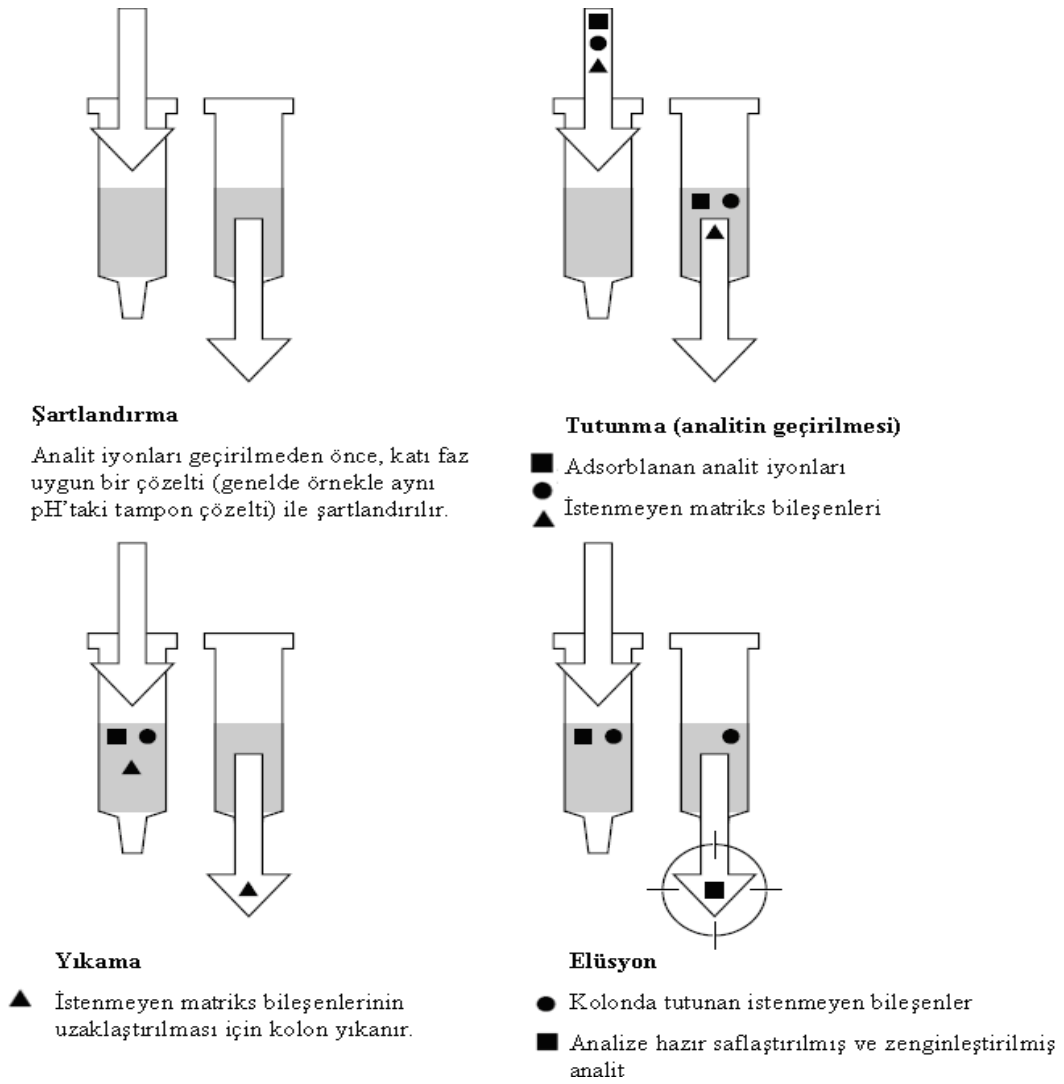
İlk basamakta; katı faz uygun bir çözücü (şartlandırıcı) ile yıkanarak hem istenmeyen safsızlıklar giderilmiş olur, hem dolgu maddesinin ıslanması, hem de

fonksiyonel grupların solvatize olması sağlanır. Şartlandırma işlemi, kolondan uygun madde geçirilerek tutucu maddenin aktif hale getirilmesi ve matriksteki maddeler ile tekrarlanabilir etkileşim için gerekli ortamın sağlanabilmesi amacıyla yapılmaktadır. Hatta bu basamak kolon içerisinde bulunan havayı uzaklaştırır ve boş hacimlerin çözücü ile dolmasını sağlar. Şartlandırıcının seçimi çözücünün ve katı adsorbanın türüne bağlıdır. Şartlandırma ve örnek muamele basamakları arasında katı adsorbanın kurummasına izin verilmemelidir. Aksi takdirde, analitler yeterli bir şekilde tutunmaz ve düşük geri kazanımlar elde edilir. Şayet, adsorban birkaç dakikadan daha uzun süre kuru kalırsa, tekrar şartlandırılmalıdır (Yılmaz 2006).

İkinci basamakta; örnek yer çekimi kuvvetiyle ya da pompa vasıtasıyla kolondan geçirilir. Örneğin kolondan akış hızının, analitlerin etkin olarak tutunmasını sağlayacak kadar yavaş, zaman kaybına neden olmayacak kadar hızlı olmalıdır. Bu basamak süresince, analitler katı adsorban üzerinde değiştirilir.

Üçüncü basamakta, zayıf bir elüasyon özelliği gösteren uygun bir çözücü ile katı faz yıkanarak, analitleri kolondan uzaklaştırmaksızın katı faz üzerinde olabilecek matriks iyonları uzaklaştırılmış olur.

Dördüncü basamakta; kolondan tutunan ortam bileşenlerini almayacak şekilde uygun bir elüent geçirilerek, analit iyonları elüe edilir. Elüasyon için genelde şelatın yapısını bozan ve eser elementi serbest hale getiren bir asit kullanılmaktadır (Elçi ve ark. 1992, Camel 2003). Çözücü (elüent) hacmi analitlerin kantitatif geri kazanılmasını sağlayacak şekilde ayarlanmalı ve buna ilaveten, elüent akış hızı ise yeterli elüasyonun sağlanması için doğru bir şekilde ayarlanmalıdır (Camel 2003).



Şekil 2.1. Katı faz özütleme yöntemi (Sekhar ve ark. 2003)

Katı faz ekstraksiyon yöntemi genelde 2 farklı şekilde uygulanır.

-Kolon Tekniği

Kolon tekniği, batch (çalkalama) tekniğine göre daha yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde genel olarak 0,5-1 cm çapında, 10-15 cm uzunluğunda musluklu mini kolonlar kullanılır. Eser metalleri tutacak olan adsorban bu kolonlara doldurulur. Örnek çözelti kolondan geçirilmeden önce, yaklaşık 5-10 mL örnek çözücüsüne benzer bir çözeltinin geçirilmesi ile şartlandırılır. Hazırlanan kolondan örnek çözeltisi geçirilerek eser elementlerin kolonda tutunması sağlanır. Eser elementi içeren çözeltinin pH ayarlaması, uygun şelatlaştırıcının eklenmesi vb. gibi gerekli ön işlemleri yapıldıktan sonra kolondan geçirilerek metal iyonlarının adsorban üzerinde

tutunmaları sağlanır. Adsorban üzerinde tutunmuş istenmeyen maddeler varsa uygun bir çözeltili ile yıkanarak uzaklaştırılır. Burada kullanılan çözücü, analiti etkilemeden sadece matriks bileşenlerini önemli ölçüde desorbe edebilmelidir. Katı faz üzerinde adsorblanan analit iyonları, kolondan elüent denilen uygun bir çözücünün geçirilmesi ile daha küçük bir hacime alındıktan sonra analit derişimi tayin edilir (Aydın 2008) Bu teknikte kullanılan örnek hacmi, analitin derişimine ve örnek akış hızına bağlıdır. Kolonda tutunan analitin elüasyonu için gereken çözeltilinin hacminin küçük olmasından dolayı 1000 kata varan zenginleştirme faktörleri kolaylıkla elde edilebilir.

-Batch (Çalkalama) Tekniği

Analitin içinde bulunduğu çözeltiliye, katı faz maddesi ilave edilerek belirli süre birlikte mekanik veya ultrasonik olarak çalkalanırlar. Tutunma dengesi kurulduktan sonra çözeltiden katı faz, süzme ve dekantasyon ile ayrılır. Katı fazdaki elementler uygun çözücü ile desorbe edilerek çözeltili analizine uygun tekniklerle tayin edilir. Katı fazdaki eser elementler, desorbe edilmeden doğrudan katı faz teknikleriyle de tayin edilebilir. Bu tür tayinlerde adsorban uygun bir çözücü kullanarak çözeltili haline getirilmelidir. Dağılıma katsayısı büyük elementlerin zenginleştirilmesinde bu uygulama faydalıdır (Özdağ Höl 2005).

Sonuç olarak, katı faz ekstraksiyon metodu sahip olduğu avantajlar sayesinde özellikle çevre ve gıda, analitik, biyokimya, farmasotik biyoanaliz, toksikoloji ve adli tıp, kozmetik, organik sentez vb. alanlarda günümüzde en fazla kullanılan örnek hazırlama metotlarından birisi haline gelmiştir (Uluözlü 2010).

Katı faz ekstraksiyon metodunun ilerleyen zamanla daha çok gelişeceği açıktır. Çünkü birçok laboratuvarında bir taraftan katı faz ekstraksiyon şekil ve tutucu maddelerinde yenilikler yapılırken, bir taraftan da birçok maddenin basit şekilde ekstrakte edilebileceği yöntemler araştırılmaktadır. Bu amaçla katı faz ekstraksiyon sistemlerinde otomasyonun önümüzdeki yıllarda özellikle biyolojik ve çevresel örneklerin analizi için çok daha önemli hale gelmesi beklenmektedir. (Yavuz ve Aksoy 2006).

2.2. Adsorpsiyon

Adsorpsiyon bir ayırma yöntemidir. Adsorpsiyon gaz, buhar ya da sıvı fazında veya herhangi bir çözeltilde bulunan çözünmüş maddelere ait molekül, atom veya iyonların bir katının yüzeyinde toplanma olayıdır. Tutunan maddeye adsorplayıcı, tutulan maddeye de adsorplanan denir. Çözelti içerisindeki kirleticinin adsorplanması, adsorbe olacak maddenin çözelti içerisindeki konsantrasyonuna bağlıdır. Bunun yanında sıcaklık, pH, adsorban madde miktarı, karışım hızı gibi etkenler de adsorblama olayını etkileyen faktörlerden bazılarıdır.

Metaller ve plastikler de dahil olmak üzere bir kristal yapıya sahip olsun ya da olmasın tüm katılar az veya çok adsorplama gücüne sahiptir. Adsorplama gücü yüksek olan bazı doğal katılar, kömürler, killer, zeolitler ve çeşitli metal filizleridir. Yapay katılar ise, aktif kömürler, moleküler elekler, silika jeller, metal oksitleri ve özel polimerlerdir (Varhan Oral 2009).

Adsorplayıcı maddeler polar (silika jel, Amberlit XAD reçineleri, alümina, zeolitler) ve apolar (kömürler, plastikler, grafit, parafin) olabilir. Polar adsorplayıcılarda elektriksel etkileşimler etkili olurken, apolar adsorplayıcılarda daha çok dispersiyon kuvvetleri etkili olmaktadır. Adsorplanan maddelerin elektriksel yükleri, polar olup olmayışları, iyon veya molekül çapları adsorpsiyon olayında etkilidir. Polar adsorbanlar polar molekülleri adsorplar. Adsorplanan maddenin içinde bulunduğu çözücünün özellikleri ve çözücü-adsorplanan madde etkileşimleri adsorpsiyon verimini etkiler.

Adsorbanın bağıl yüzey alanı ve tanecik boyutu da ayırma tekniklerinde önemli ölçütlerdendir. Adsorbanın seçimliliği doğrudan yüzey alanı ile ilişkili değildir. Ancak, artan yüzey alanı adsorplama kapasitesini arttırır. Adsorbanın tanecik boyutunun azalması ayırma gücünü arttırır (Aydemir 2009). Adsorplama işleminde kullanılan adsorbanın boyutu küçüldükçe, yüzey alanı artacağından ve dolayısı ile adsorplama miktarı da artacaktır. Adsorplama çalışmalarında kullanılan toz adsorbanın adsorplama hızı, büyük parçalar halindeki adsorbanın adsorplama hızından daha büyüktür (Karaboyacı 2010).

Adsorpsiyon kapasitesini etkileyen etmenler şöyle sıralanabilir; Adsorbentin yüzey alanı, adsorbentin gözenek genişliği, adsorbentin yapısı, derişimi, çözünürlüğü,

çözeltinin pH'sı, çözeltinin sıcaklığı, çözeltide bulunan diğer adsorbentlerin varlığıdır (Bayram 2004).

Çözünmüş parçacıklar ile adsorplayan yüzey arasındaki çekim kuvvetlerinin türüne bağlı olarak iki değişik adsorpsiyon tipi tanımlanmaktadır.

2.2.1. Fiziksel Adsorpsiyon

Moleküller veya atomlar ya da iyonlar yüzeye yoğunlaşmaya benzer zayıf bir etkileşim ile tutunurlarsa buna fiziksel adsorpsiyon adı verilir. Fiziksel adsorpsiyon sırasında atom, molekül ya da iyon şeklinde olabilen adsorplanan tanecikler ile katı yüzeyi arasında uzun fakat zayıf olan van der Waals bağları, dipol-dipol etkileşimi ve hidrojen bağları oluşumu etkindir. Fiziksel adsorpsiyonun oluşabilmesi için düşük sıcaklık aralığı yeterlidir. Bağlar zayıf ve tersinirdir. Nitekim adsorplanan bileşenin çözeltideki derişiminin değişimi ile adsorplanan moleküller desorbe olmaktadır. Rejenerasyonu kolaydır.

2.2.2. Kimyasal Adsorpsiyon

Moleküller veya atomlar ya da iyonlar yüzeye kimyasal tepkimeye benzer kuvvetli bir etkileşim ile tutunurlarsa buna kimyasal adsorpsiyon adı verilir. Kimyasal adsorpsiyonda katı ve adsorplanacak çözünen arasında kimyasal bir reaksiyon genellikle de kovalent bağ oluşmaktadır ve reaksiyon genellikle tersinmezdir. Kimyasal adsorpsiyon, fiziksel adsorpsiyon ile karşılaştırıldığında daha spesifiktir. Kimyasal adsorplama genelde yüksek sıcaklıklarda meydana gelir ve yüzeyde moleküllerin bağlanacağı yer kalmayınca adsorplama durur. Genelde tersinir bir adsorplama çeşidi değildir.

Adsorpsiyon ve desorpsiyonun yavaş olmasından dolayı, eser elementlerin ayrılması ve zenginleştirilmesi için kimyasal adsorpsiyon çok uygun değildir. Eser elementler, katı faz üzerinde genellikle van der Waals kuvvetleri ya da hidrofobik etkileşimler vasıtasıyla adsorbe olmaktadır. Hidrofobik etkileşimler, katı adsorbanın non-polar olduğu durumda gerçekleşir.

2.3. Biyosorpsiyon

Atık sulardaki ağır metalleri uzaklaştırma metodlarından biri de biyosorpsiyondur. Mikroorganizmalarla ağır metal iyonlarının adsorplanarak giderimi olayı olarak tanımlanır. Bunun yanında son yıllarda biyosorpsiyon kavramının daha özel manada; metal iyonlarının sulu ortamdan, yaşamayan (ölü) biyokütle ile uzaklaştırılması olayı olarak kullanılması da yaygınlaşmaktadır (Matheickal ve Yu, 1997, İleri 2000, Volesky 2001).

Biyolojik süreçlerle metal arıtımı, özellikle mikropsal hücrelerle yapılan metal biyosorpsiyonu etkili ve alternatif bir teknoloji oluşturacak güçtedir. Metallerle biyosorpsiyon sürecinin temelde iki hedefi vardır. Birincisi altın, gümüş ve platin gibi ticari değere sahip paslanmaz metallerin geri kazanımı; ikincisi ise canlı sistemleri ve çevresi için çok küçük derişimlerde bile son derece toksik olan civa, bakır, demir, kurşun, krom, kadmiyum, nikel ve çinko gibi ağır metallerin kirli sulardan uzaklaştırımıdır (Costa ve Leite 1991).

Ağır metallerin biyosorpsiyonu (biyolojik adsorpsiyonu) hızlı ve tersine döndürülebilen bir olaydır. Biyosorpsiyonla ilgili önemli gelişmelerden biri hücrelerin tutuklanarak (immobilizasyon) kullanılmış olmasıdır. Tutuklanmış hücre kullanım metodu olan immobilizasyon, numunenin biyosorpsiyonu için gerekli olan boyut, mekanik kuvvet, sertlik ve gözeneklilik sağlarken hem hücrelerin arzu edilen bir şekilde kolayca elde edilmesine, hem de dayanıklı biyokütle oluşmasına vesile olur ve biyokütlenin tekrar tekrar biyosorpsiyon-desorpsiyon olarak kullanılmasını sağlar (İleri ve ark. 1994).

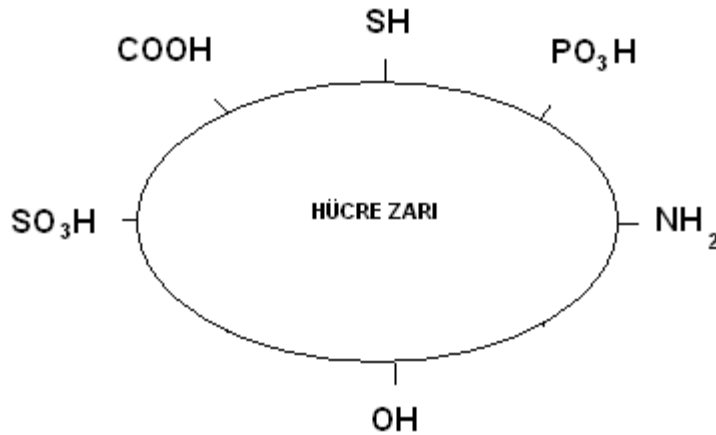
Canlı veya ölü organizmalar seçici olarak atık sulardaki inorganik iyonları biriktirme ve ayırmada yüksek bir potansiyele sahiptirler. Ağır metallerin uzaklaştırılmasında mikroorganizmaların canlı ve ölü kullanılmasının avantajlarından biri, bu metodun düşük konsantrasyonlu ağır metallerin uzaklaştırılmasında kullanılabilir olmasıdır. Bugüne kadar yapılan çalışmalar göstermektedir ki karmaşık ve çok az anlaşılmiş olan metal alım mekanizması; organizmaların ölü veya canlı oluşuna, mikroorganizma çeşidine, kullanılan mikroorganizmanın hücre tipine, içerdiği temel bileşenlere ve elementlerin türüne bağlıdır (Madrid ve Camara 1997). Hem canlı hem de

ölü mikroorganizmaların metal tutma özelliği birbirine benzese de mekanizmalar birbirinden farklıdır.

Metabolizmaya bağlı olan metal tutması canlı mikroorganizmalarda metallerin hücre zarından hücre içine alınması şeklinde gerçekleşir. Metabolizmaya bağlı olmayan metal tutunması olayı çoğu zaman ölü mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilir. Yapılan çalışmalar ile ölü mikroorganizmanın, yaşayan hücrelerinden daha fazla metali adsorpladığı gözlenmiştir.

Metabolizmaya bağlı olan biyosorpsiyon; toksik metallerin varlığında reaksiyon veren, mikroorganizmanın aktif savunma sistemi ile ilişkilidir. Bu olayın gerçek mekanizması tam olarak bilinmemektedir (Uluözlü 2010).

Ölü organizmalardaki metal biyosorpsiyonu, önemli bölgeler olan hücre duvarında metabolizmadan bağımsız olarak gerçekleşir. Metabolizmadan bağımsız biyosorpsiyon işlemleri genellikle hızlıdır. Metabolizmadan bağılı olmayan biyosorpsiyon, hücre yüzeyindeki mevcut bazı fonksiyonel gruplar ile metal arasında birçok fizikokimyasal etkileşimin sonucu olarak ortaya çıkar. Bu olay sırasında metabolizmaya bağılı olmayan fiziksel adsorpsiyon, iyon değişimi ve kimyasal sorpsiyon meydana gelebilir. Hücre duvarı çeşitli polisakkaritleri, lipidleri ve proteinleri içerir ve bundan dolayı metal iyonlarını bağlama kapasitesine sahip çeşitli aktif bölgeler sunar. Bu yapılarda sık rastlanan karboksil, sülfat, fosfat, tiol, hidroksil ve amino gibi metal bağlayıcı gruplar vardır (Şekil 2.2). Bu tip tutunma olayı oldukça hızlı ve maliyetsizdir (Madrid ve Camara 1997).



Şekil 2.2. Hücre zarında metallerin tutunma bölgeleri (Uluözlü 2010)

Hücre duvarındaki proteinler metali bağlamak üzere aktif bölgeler oluştururlar. Ağır metallerin proteinlere karşı kuvvetli ilgisi vardır. Proteinlerin peptid bağlarının azot ve oksijeni, hidroksil, amino, fosfat gibi grupları, iyonların metal iyonları ile yer değiştirmesi için uygundur. Amfolit karakterde olan proteinlerde, molekülün türüne göre belirli bir izoelektrik pH'sı vardır. Pozitif yüklü metal iyonlarının izoelektrik noktanın altında katyonik bir karakter taşıyan protein moleküllerinin içerdiği grupların aynı yüklü iyonlarıyla yer değiştirdikleri, izoelektrik noktanın üstündeki pH'larda ise negatif yüklü reaksiyon alanlarıyla kompleksler oluşturarak adsorplandıkları düşünülebilir. Dolayısıyla ortam pH'sının ağır metal adsorpsiyonunda etkin bir parametre olması öngörülebilir (Aydemir 2009).

Fiziksel adsorpsiyon, van der Waals kuvvetleriyle meydana gelir. Bu, bazı metal iyonlarıyla hücre duvarı arasındaki elektrostatik etkileşmeden oluşur. Hücre duvarı polisakkaritleri içerir ve sulu ortamdaki iki değerlikli metal iyonları polisakkaritlerin karşı iyonları ile yer değiştirirler. Çözüldü metal tutulması, yüzeydeki aktif grup ile metalin hücre yüzeyinde kompleks oluşturmasıyla meydana gelir. Mikroorganizmalar aynı zamanda organik asitler (sitrik asit, oksalik asit, glukonik asit, fumarik asit, laktik asit, malik asit) de üretebilirler. Bu asitler toksik metaller ile şelat oluşturarak organo-metalik moleküllerin oluşmasını sağlarlar. Hücre metabolizmasına bağlı olmayan çöktürme, metal ile hücre yüzeyinin kimyasal etkileşmesinden meydana gelir. Burada bahsedilen birçok biyosorpsiyon mekanizması bir arada da meydana gelebilir (Uluözlü 2010).

Ağır metallerin biyosorpsiyonu genelde iyon değiştirme, fiziksel ve/veya kimyasal adsorpsiyon, kompleksleşme, koordinasyon, elektrostatik etki, kovalent bağlanma, van der Waal's kuvvetleri, şelatlama ve mikroçökelme işlemlerinin bir ya da daha fazla kombinasyonu ile gerçekleşmesine dayanmaktadır (Breierova ve ark. 2002, Mack ve ark. 2007).

Sonuç olarak; metallerin biyolojik yöntemlerle uzaklaştırılması ve geri kazanımı, kullanılan klasik fiziksel-kimyasal arıtım yöntemlerine kıyasla ekonomik ve pratik olması, yüksek verimlilik içermesi nedeniyle tercih edilmekte ve ilgili biyoteknolojik süreçlerde kullanılmaktadır. Biyolojik süreçler arasında da mantarlar, mayalar, bakteriler, algler ile yapılan biyosorpsiyon çalışmaları etkin ve verimli bulunmuştur.

2.4. Termofilik Bakteriler

Bakteriler yaşayabildikleri sıcaklık aralıklarına göre sakrofiller, mezofiller ve termofiller olmak üzere üç ana gruba ayrılır. Sakrofiller -10°C 'ye kadar sıcaklıklarda yaşayabilirler ancak bunların en iyi büyüebildiği sıcaklık 15°C civarındadır. Mezofiller normal ortam sıcaklığında ($20-45^{\circ}\text{C}$) büyüebilir ve insanlar için patojen olan mikroorganizmalar bu gruba girer. Termofiller ise 45°C 'nin üzerindeki sıcaklıklarda ve hatta bazıları kaynar sularda bile yaşayabilir (Sağlam Ertunga 2006).

Bakteriler içerisinde ekstrem sıcaklık değerlerine karşı dayanıklı olan tek mikroorganizma grubu olan termofilik organizmaların, yayılım gösterdikleri alanlar çok çeşitlidir. Bu mikroorganizmalara tüm jeotermal alanlarda, termal ve tropik topraklarda, çöllerde, gübre yığınlarında, gübreyi oluşturan dışkılarda ve çöplerde rastlanmaktadır. Jeotermal bölgelere örnek olarak; nötral pH'lı kaplıcalar, kükürtçe zengin asidik kaplıcalar ve derin deniz dipleri verilmektedir.

Termofilik mikroorganizmalar yüksek sıcaklık, pH, tuz konsantrasyonu ve yüksek basınçlı ortamlara uyum sağladıklarından endüstriyel alanda sıkça kullanılırlar (Adıgüzel 2006). Termofil bakteriler, hem endüstriyel uygulama alanları için hem de temel bilimlerin gelişmesi için pek çok avantaj sağladığından dolayı son zamanlarda, bu bakteriler üzerine araştırmalar yoğun bir şekilde yürütülmektedir (Özdemir 2008).

2.4.1. *Anoxybacillus*

Termofilik bakteri türüdür. *Anoxybacillus* cinsine ait üyeler, daha önce *Bacillus* cinsi içerisinde bulunmaktaydı. Gelişim sıcaklık aralığı $30-72^{\circ}\text{C}$ 'dir ve optimum $60-72^{\circ}\text{C}$ arasında gelişirler. pH gelişim aralığı $5.0, 7.0-11.0$ 'dir ve optimum pH $7.5-8.5$ aralıklarında gelişim gösterirler. Bu cins ilk kez 2000 yılında Pikuta ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Bu cinsin ilk tanımlanan türü *Anoxybacillus pushchinoensis*'tir. Cins, *A. gonensis*, *A. flavithermus*, *A. contaminans*, *A. voinovskiensis*, *A. ayderensis*, *A. kestanboluensis*, *A. pushchinoensis* adında yedi tür içermektedir (Özdemir 2008). Her ne kadar Pikuta ve arkadaşları bu cinsi oksijensiz *Bacillus* anlamına gelen *Anoxybacillus* şeklinde adlandırmış olsa da bu cinsin tanımlanan birçok türünün aerobik olarak iyi bir şekilde gelişebildiği ve hatta bazı türlerin sadece bazı özel şartlarda anaerobik olduğu belirlenmiştir (Derekova ve ark. 2007).

2.5. Amberlit XAD Reçineleri

Fiziksel özellikleri ve yüksek adsorpsiyon kapasitesinden dolayı eser metal önderiştirilmesinde sulu sistemlerde metal komplekslerinin adsorpsiyonu sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Önderiştirme/ayırma uygulamalarında, Amberlit XAD reçineleri metal komplekslerin adsorpsiyonunu içerir (Caner 2006).

Amberlit XAD reçineleri sert ve değişmeyen gözenekli yapılara sahip çapraz bağlı kopolimerlerdir. XAD reçineleri, gözeneklilik, özdeş gözenek boyutu dağılımı, yüksek yüzey alanı, dayanıklılık, organik çözücülere, oksidasyon ajanlarına karşı kimyasal stabilite ayrıca elüent olarak organik maddelerin yanı sıra asidik ve bazik çözeltilerin kullanılabilmesi gibi fiziksel üstün özelliklere sahiptir.

Herhangi bir adsorbanın verimi, genel olarak spesifik iç yüzey alanlarına bağlı olduğu gibi, spesifik gözenek hacmine ve gözenek büyüklüğüne de bağlıdır. XAD reçine serisi içinde yüzey alanı arttıkça adsorpsiyon kapasitesinin de arttığı gözlemlenmiştir (King ve Fritz 1985).

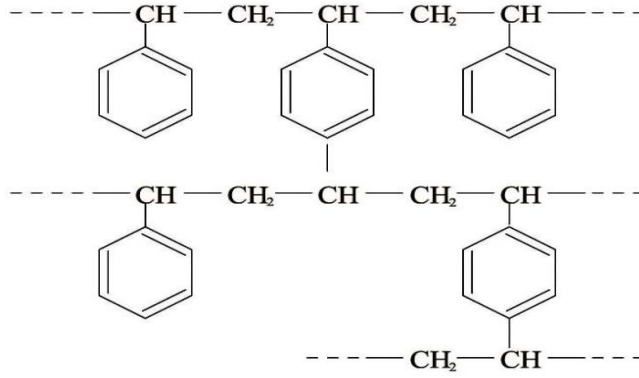
Amberlit XAD reçinelerini iki grupta inceleyebiliriz.

1) Poliakrilik asit esterleri (PAA-E) esaslı reçineler

Amberlit XAD-6, XAD-7, XAD-8, XAD-9 ve XAD-11 reçineleri bu gruptadır. Hidrofilik bir yüzeye, orta derece polariteye sahiptirler. Kolaylıkla ıslanıp, daha fazla su adsorbe ederler. Aromatik olmayıp, çok düşük iyon değişirme kapasitesine sahiptirler.

2) Polistiren-divinil benzen (PS-DVB) esaslı reçineler

XAD-1, XAD-2, XAD-3, XAD-4, XAD-5, XAD-16 ve XAD-1180 reçineleri bu grupta yer alan reçinelerdir. Hidrofobik apolar bir yüzeye sahiptirler. Polistiren-divinilbenzen kopolimeri hidrofobik olduklarından dolayı kolayca ıslanmazlar ve az miktarda su adsorplarlar. Aromatik karakterlidirler ve iyon değişim kapasitesine sahip değildirler. XAD reçinelerinden en düşük yüzey polaritesine sahip olan gruptur. Artan yüzey alanıyla beraber reçine kapasitesi de artar. PS-DVB kopolimerlerinin kimyasal yapıları Şekil 2.3'de gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Polistiren-divinil benzen temelli reçinelerin kimyasal yapıları (Tek 2005)

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

Amberlit XAD-16 reçinesi yenilenebilir ve polar çözücülerden hidrofobik moleküllerin adsorplanmasında tekrar tekrar kullanılabilir. Polar çözücülerden ve sulu çözeltilerden küçük organik moleküllerin pek çoğunun ayrılması için Amberlit XAD-16 reçinesi kullanılabilir. Amberlit XAD-16 reçinesinin bazı özellikleri Çizelge 2.1’de verilmiştir (Tewari ve Singh 2000, Tewari ve Singh 2001).

Çizelge 2.1. Amberlit XAD 16 reçinesinin spesifik özellikleri

Yapısı	: Çapraz bağlı poliaromatik polimer
Fiziksel formu	: Yarı saydam beyaz tanecikler
Spesifik yüzey alanı	: 800 m ² / g
Nem tutma kapasitesi	: % 61-67
Ortalama boyu	: 20-60 mesh
Yarıçapı	: ortalama 100 Å ⁰
pH aralığı	: 0-14

2.6. Ağır Metaller

Ağır metal, düşük konsantrasyonlarda zehirli ya da toksik olan, yoğunluğu 5 g/cm³’ten daha yüksek olan elementlere denir. Ağır metallerde örnek olarak, civa (Hg),

nikel (Ni), kurşun (Pb), arsenik (As), kadmiyum (Cd), demir (Fe), kobalt (Co), alüminyum (Al), platin (Pt), çinko (Zn) ve bakır (Cu) gibi birçok metali sıralayabiliriz.

2.6.1. Ağır Metallerin Biyolojik, Çevresel Etkileri ve Kirliliği

Endüstriyel gelişim, hızlı nüfus artışı, kentleşme ve bunun gibi ilerlemeler gerek enerji gerekse üretimde artışa neden olmuştur. Bu durum canlılar için hayati önem taşıyan hava, su ve toprağın kirlenmesine neden olmuştur. Ekolojik dengeyi bozan kirlenici unsurlar arasında; bazı organik maddeler, endüstriyel atıklar, petrol ve türevleri, yapay tarımsal gübreler, deterjanlar, radyoaktif maddeler, pestisitler, inorganik tuzlar, yapay organik kimyasal maddeler ve ağır metaller olarak bilinen maddelerdir. Bu maddeler doğal dengeyi olumsuz yönde tehdit eden unsurlardır. Birçok ağır metal sanayide kullanılmakta ve atık olarak doğaya terk edilmektedir. Özellikle son on yıldaki endüstriyel gelişmeler deniz çevrelerinin ağır metaller tarafından kirlendiği ve bu kirlenmenin besin zincirine de yansıdığı gerçeğini ortaya koymaktadır. Ağır metaller toprağa ve sulara karışmalarıyla birlikte, topraktan bitkilere oradan da hayvan ve insan organizmasına geçerler. Su ve besinler ile bünyeye alınan ağır metaller canlılarda birikerek tüm yaşam aktivitelerine zarar verebilme ve değiştirebilme potansiyeline sahiptirler (Göllü Özcan 2010). Bazı ağır metaller uzun süre maruz kalınması halinde ise kanser vakaları görülebilir veya yüksek dozda kısa süre maruz kalınması direk ölümle sonuçlanabilir.

Ağır metaller biyolojik işlemlere katılma derecelerine göre yaşamsal ve yaşamsal olmayan olarak sınıflandırılırlar. Yaşamsal olarak tanımlananlar organizma yapısında belirli bir konsantrasyonda bulunarak biyokimyasal reaksiyonlara katılırlar. Bunların besinler yoluyla düzenli olarak alınmaları zorunludur. Mesela kırmızı kan hücrelerinin oksidasyon ve indirgenme proseslerindeki bakır ihtiyacı buna iyi bir örnektir. Yaşamsal olmayan ağır metaller ise çok düşük konsantrasyonda bile psikolojik yapıyı etkileyerek sağlık problemlerine yol açabilmektedirler. Bu gruba en iyi örnek kükürtlü enzimlere bağlanan civadır. Örneğin nikel bitkilerde toksik etki gösterirken, hayvanlarda iz düzeyde bulunması gereken bir elementtir (Özdemir 2008).

Ağır metallerin toksik etkileri ise kimyasal yapılarına, konsantrasyonlarına, diğer elementlerle olan oranlarına, dışarı atılma hız ve zamanlarına bağlıdır. Ağır metaller belirli konsantrasyonu aştıkları zaman toksik olarak etki gösterirler. Bu genel

gösterimin aksine ağır metaller canlı bünyelerde sadece konsantrasyonlarına bağlı olarak etki göstermezler; ağır metallerin etkileri canlı türüne ve metal iyonunun yapısına da bağlıdır (çözünürlük değeri, kimyasal yapısı, redoks ve kompleks oluşturma yeteneği, vücuda alınış şekline, çevrede bulunma sıklığına, lokal pH değeri v.b).

Ağır metallerin çevreye salınımı mutlaka kontrol edilmesi, yakından izlenmesi ve kısıtlanması gereken bir konudur. Bu maddelerin ağızdan alınmaları sonucu şiddetli zehirlenmeler ve zaman içinde tehlikeli hatta ölümcül hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle özellikle düzenli olarak tüketilen içme sularının ve yiyeceklerin içerebileceği maksimum ağır metal konsantrasyon sınır değerleri sınırlandırılmış ve yasal kuruluşlar tarafından düzenli olarak kontrol edilmesi zorunlu kılınmıştır.

2.6.2. Bakır (Cu)

Bakır (İngilizce copper, Almanca Kupfer, Fransızca cuivre), 1B geçiş grubu elementidir. Bakıra tarihte ilk defa Kıbrıs'ta rastlandığından tüm dillerdeki isimlerinin Cyprium kelimesinden türediği tahmin edilmektedir. Simyacılar tarafından Venüs aynası ile gösterilmiştir. Tarih boyunca insanlar tarafından demirden sonra en çok kullanılan ikinci metaldir (Şekil 2.4).

2.6.2.1. Bakırın Özellikleri ve Önemi

Çizelge 2.2. Bakırın özellikleri

Temel Özellikleri	
Atom numarası	29
Element serisi	Geçiş metalleri
Grup, periyot, blok	11, 4, d
Görünüş	Metalik kahverengidir
Atom ağırlığı	63,546(3) g/mol
Elektron dizilimi	[Ar] 3d ¹⁰ 4s ¹
Enerji seviyesi başına Elektronlar	2, 8, 18, 1

Fiziksel Özellikleri	
Maddenin hali	katı
Yoğunluk	8,96 g/cm ³
Sıvı haldeki yoğunluğu	8,02 g/cm ³
Ergime noktası	1357,77 °K 1084,62 °C 1984,32 °F
Kaynama noktası	2562 °C 4643 °F
Ergime ısısı	13,26 kJ/mol
Buharlaşma ısısı	300,4 kJ/mol
Isı kapasitesi	24,440 (25 °C) J/(mol·K)

Atom özellikleri	
Kristal yapısı	Kübik
Yükseltgenme seviyeleri	(2+), (1+)
Elektronegatifliği	1,90 Pauling ölçeği
İyonlaşma enerjisi	745,5 kJ/mol
Atom yarıçapı	135 pm
Atom yarıçapı (hes.)	145 pm
Kovalent yarıçapı	138 pm
van der Waals yarıçapı	140 pm

Bakırın önemi, başlıca üç nedenden kaynaklanmaktadır:

1. Dünya'nın hemen hemen tüm bölgelerinde bulunması nedeniyle geniş ölçüde üretiminin yapılabilmesi,
2. Elektriği diğer bütün metaller içinde gümüşten sonra en iyi ileten metal olması,
3. Endüstriyel önemi yüksek, pirinç, bronz gibi alaşımlar yapmasıdır (wikipedia 2011).



Şekil 2.4. İşlenmemiş bakır

2.6.2.2. Kullanım Alanları

Bakırın önemli rol oynamasının, endüstride ve çeşitli alanlarda kullanılmasının nedeni çok farklı özelliklere sahip olmasıdır. Bakırın önemli özellikleri arasında yüksek elektrik ve ısı iletkenliği, aşınma ve korozyon direnci, çekilebilme ve dövülebilme gibi özellikler sayılabilir. Gümüşten sonra en iyi iletken metal bakırdır. Ayrıca alaşımları çok çeşitli olup endüstride (otomotiv, basınçlı sistemler, borular, vanalar, elektrik santralleri ve elektrik, elektronik, boya, kuyumculuk, inşaat, ulaşım vd.) değişik amaçla kullanılmaktadır.

2.6.2.3. Canlı Bilimleriyle İlişkisi

Bakır, bitkiler, hayvanlar ve insanlar için yaşamsal önemi bulunan eser elementlerin ilk sıralarında yer alır.

Bitki ve hayvanlarda, askorbit asit, oksidaz, tirozinaz, laktoz ve monoamin oksidaz gibi yükseltgeyici enzimlerin bir parçası olarak çok az miktarda bulunan bakır, bunların sağlıklı yaşamı için gereklidir. Bitkiler fotosentez ve oksidatif solunum için, hayvanlar ise oksidasyon olaylarında enzimlerin kontrollü çalışması için bakıra ihtiyaç duyarlar. Bakır, proteinlerde, oksijen, kükürt ya da azot atomları içeren bağlanma bölgelerine sıkıca bağlanır.

İnsanların normal beslenme rejimi her gün 2-5 mg arasında bakır gerektirir. Kalıtsal protein seruloplazmin (kan plazmasında bulunan protein) eksikliği aşağı yukarı bütün dokularda, özellikle beyin ve karaciğerde bakır miktarının artmasıyla birlikte gelişir. Bakır vücut fonksiyonları açısından önemli olmakla beraber özellikle saç, kemik ve bazı iç organların temel bileşenidir. Erişkin insanlarda ortama 50-120 mg bulunan bakır, amino asitler, yağ asitleri ve vitaminlerin normal koşullarda

metabolizmadaki reaksiyonlarının vazgeçilmez ögesidir. Birçok enzim ve proteinin yapısında bulunan bakır, demirin fonksiyonlarını yerine getirmesinde aktivatör görevi üstlenir. Bakır eksikliğinde hayvanlarda anormallikler, kansızlık, kemik hataları ve sinir sisteminde bozukluklar tespit edilmiştir (Vanderwerf ve ark. 2001).

2.6.2.4. Toksik Etkisi

Bakırın toksik etkisi, metal iyonunun konsantrasyonuna bağlı olduğu için bu iyonun konsantrasyonunun anormal bir şekilde artmasıyla ortaya çıkar. Bakır yaşamsal bir metal iyonu olarak gerekli olmasına rağmen yüksek konsantrasyon seviyelerinde hücrelerde tahribata neden olur. Bakırın yüksek konsantrasyonları sonucu DNA'ya zarar vererek kanser riskini büyük oranda arttırmasının yanı sıra depresyon, şizofreni, bunaklık, hipertansiyon gibi ciddi zihinsel ve bedensel rahatsızlıklara yol açar. Bakır, kanda 0.9 mg/L düzeyini geçmemelidir. İçme sularında Dünya Sağlık Örgütü'nün belirlediği sınır değeri 0.05–1.5 mg/L'dir. Tozlu havada sınır değer 1 mg/m³ olup, normal havada 0.2 mg/m³ dür (Kartal ve ark. Metalurji 2011).

2.7. Katı Faz Ekstraksiyonu ile Yapılan Önceki Çalışmalar

Bağ ve ark. (1998), sepiolit üzerine immobilize edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* ile Fe ve Ni iyonları kolon metoduyla zenginleştirilmiş ve FAAS ile tayinlerini incelemişlerdir. Analit iyonlarının geri kazanılmasına pH, adsorban miktarı, elüasyon çözeltisi, akış hızı matris iyonlarının girişim etkileri gibi parametreleri incelemişlerdir. Kolonda tutunan Fe ve Ni iyonları, % 95 güven aralığında sırasıyla % 95±1 ve % 99.5±0.1 verimlerinde geri almışlardır. Geri alma çözeltisi olarak 10 mL 1 M HCl kullanmışlardır. Önerilen metod, maden örneğinde, Fe ve Ni iyonlarının tayininde uygulamışlardır. Fe ve Ni iyonları için gözlenebilme sınırları; 0.065 ve 0.087 µg/mL olarak bulmuşlardır. Geliştirilen zenginleştirme yönteminin (NBS SRM 37e) Fe ve Ni'in tayinine uygulanabileceğini görmüşlerdir.

Bağ ve ark. (1999), *Aspergillus niger*'in sepiolit üzerine immobilizasyonu sonucu yapılan zenginleştirme çalışmaları ile Cu, Zn, Fe, Ni ve Cd metal iyonları FAAS ile tayin etmişlerdir. pH, adsorbent miktarı, elüasyon çözeltisi, akış hızı ve bozucu iyonların analitleri geri kazanımı üzerine etkilerini incelemişlerdir. *A. niger*'in sepiolit üzerine tutuklanması ile gerçekleştirilen Cu, Zn, Fe, Ni ve Cd'un geri kazanımlarını %

95 güven seviyesinde sırasıyla % 98.01±0.6, % 98.8±0.5, % 98.0± 0.4, % 96.4±0.8, % 94±0,6 olarak bulmuşlardır. Adsorbentin kapasitesini Cu, Zn, Fe, Ni ve Cd için sırasıyla 0.093, 0.078, 0.067, 0.085 ve 0.102 mmol/g olarak bulmuşlardır.

Bağ ve ark. (2000), sepiolit üzerine immobilize edilmiş *Escherichia coli* bakterisi içeren kolon kullanarak Cu, Zn, Fe, Ni ve Cd iyonlarının zenginleştirme koşullarını araştırmışlardır. Metallerin tayini için atomik absorpsiyon spektrometresini kullanmışlardır. Çalışılan elementler için optimum pH değerleri, adsorban miktarı, elüasyon çözeltisi ve akış hızı elde etmişlerdir. Geri kazanma verimine girişim oluşturabilecek bazı iyonların etkisi bu elementlerin yanında incelemişlerdir. Geliştirilen en uygun koşullarda % 95 güven aralığında Cu, Zn, Fe, Ni ve Cd iyonlarının geri kazanma verimleri sırasıyla % 99.1±0.6, 98.1±0.5, 97.2±0.8 ve 98.2±0.4 olarak bulmuşlardır. Geliştirilen yöntemi standart referans maddeye (NBSSRM 85b) uygulamışlardır.

Valdman ve ark. (2001), alg *Sargassum sp.* biyokütle kalıntısı ile bakır ve çinkonun biyosorpsiyonunu kolon dolgu maddesi ile araştırmışlardır. Biyokütle sulu çözeltilerden ağır metallerin sürekli biyosorpsiyonuna yönelik fizikokimyasal özellikleri geliştirmek için bir polimerik matriks içinde immobilize etmişlerdir. Adsorpsiyon farklı akış hızlarında incelenerek akış hızının artmasıyla azaldığını gözlemlemişlerdir. En düşük akış hızı cm^2 başına 1.0 ml/dk. bulunup bu akış hızında, kolon dinamik kapasitesi 11.9 mg Cu/g ve 21.0 mg Zn/g olarak tespit etmişlerdir.

Yan ve Viraraghavan (2001), *Mucor rouxii* biyokütlesini polysülfon matriksine immobilize etmişlerdir. Immobilize edilmiş biyokütle taneciklerini kolona doldurmuşlardır. Biyosorpsiyon kolonunun, Pb, Cd, Ni ve Zn metal iyonlarını yalnızca tek bileşenli metal çözeltileri halinde değil aynı zamanda çok bileşenli metal çözeltileri halinde de ayırabildiğini gözlemlemişlerdir. Tekli metal çözeltileri için kolonun ayırma kapasitesini Pb, Cd, Ni ve Zn için sırasıyla 4.06, 3.76, 0.36 ve 0.31 mg/g olarak bulmuşlardır. Cd, Ni ve Zn içeren çoklu metal çözeltiler için kapasite sırasıyla 0.36, 0.31 ve 0.40 mg/g'dır. Adsorplanan metal iyonlarını kolaylıkla 0.05 N HNO₃ ile desorbe etmişlerdir.

Baytak ve Türker (2004), Amberlit XAD-4 üzerine tutturulmuş *Saccharomyces carlsbergensis* adsorbent olarak kullanılıp hassas ve basit bir zenginleştirme yöntemi

geliştirmişlerdir. Bunun için eser element olan manganı tercih etmiş ve alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresiyle tayinini yapmışlardır. pH, adsorban miktarı, mikroorganizma miktarı, örnek çözeltinin elüent tipi ve hacmi optimum değerler elde etmiş ve kantitatif geri kazanımlarını (>% 95) olarak belirlemişlerdir. Sonuçları mikroorganizmalar kullanılmadan elde edilenlerle karşılaştırmışlardır. Optimum koşullar altında, % 95 güven seviyesinde geri kazanımlar mikroorganizmalı 98 ± 3 ve mikroorganizma olmadan 68 ± 2 elde etmişlerdir. Mangana için dedeksiyon limiti sırasıyla mikroorganizmalı ve mikroorganizmasız olarak 60 ng/mL ve 197 ng/mL elde etmişlerdir. Önerilen yöntem mangana belirlenmesinde standart madde olan Ferrosilicon alaşım (NBS SRM 59a), alüminyum alaşım (NBS SRM 85b) ve alüminyum folyo da uygulamışlardır. Mangana bütün örneklerde % 5'den daha az bir bağıl hata ile belirlemişlerdir.

Türker ve Baytak (2004), XAD-4 üzerine immobilize edilmiş *Escherichia coli* içeren kolon kullanarak Fe(III), Co(II), Mn(II) ve Cr(III) iyonlarının katı-faz ekstraksiyon tekniği (SPE) ile zenginleştirme şartlarını araştırmışlardır. Analiz tayinlerini atomik absorpsiyon spektrometresi ile yapmışlardır. Metal iyonlarının geri kazanımında, pH, katı fazın miktarı, elüent tipi ve hacmi, örnek çözelti hacminin etkilerini araştırmışlardır. Aynı zamanda çeşitli iyonların etkisini de araştırmışlardır. Optimum koşullar altında % 95 güven seviyesinde Fe(III), Co(II), Mn(II) ve Cr(III) iyonlarının geri kazanımları sırasıyla, 99 ± 2 , 99 ± 3 , 98 ± 2 , 98 ± 3 olarak bulmuşlardır. Zenginleştirme faktörü 25 olarak uygulanıp metal iyonlarının dedeksiyon limitlerini sırasıyla 2.4, 3.8, 1.3 ve 1.7 ng/mL olarak bulmuşlardır. Önerilen zenginleştirme yöntemi, Atatürk Barajı su örneğinde analit tayininde (RSD <% 5) uygulamışlardır. Yöntemin doğruluğunu sertifikalı (NBS SRM 85B ve NBS SRM 59a) örnekte (% 5'inden az bir bağıl hata ile) doğrulamışlardır.

Baytak ve Türker (2005), Amberlit XAD-4 üzerine immobilize edilmiş *S. carlsbergensis* içeren kolon kullanarak Fe(III), Co(II) ve Cr(III) metal iyonlarının önderiştirmesini yapmış ve tayin için alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresini (FAAS) kullanmışlardır. pH, adsorban miktarı, elüasyon çözeltisi ve örnek çözelti akış hızının optimum değerlerini analitlerin kantitatif geri kazanımları üzerinden belirlemişlerdir. Analitlerin geri kazanılmasında interfer etki gösteren iyonları araştırmışlardır. Optimum koşullar altında, Fe(III), Co(II) ve Cr(III) metal iyonlarının

% 95 güven seviyesinde geri kazanımlarını sırasıyla 99 ± 2 , 100 ± 2 ve 98 ± 2 elde etmişlerdir. Dedeksiyon limitlerini Fe(III), Co(II) ve Cr(III) için sırasıyla 2.8, 3.9 ve 7.4 ng/mL olarak bulmuşlardır. Yöntemin geçerliliğini alkollü su örnekleri ile kontrol etmişlerdir. Fe(III), Co(II) ve Cr(III) bağıl hata % 5'den daha az olarak tespit etmişlerdir.

Baytak ve Türker (2005), Amberlit XAD-4 destek maddesi üzerine immobilize edilen *Agrobacterium tumefaciens* mikroorganizmasını Fe(III), Co(II), Mn(II) ve Cr(III) metal iyonlarının zenginleştirme çalışması için yeni bir biyosorbent olarak kullanmışlardır. Analizleri alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile yapmışlardır. pH, adsorban miktarı, elüent türü ve hacmi, örnek çözeltisinin akış hızı, örnek çözelti hacmi ve matriks girişim etkileri gibi çeşitli parametreleri metal iyonlarının tutunma üzerinde etkisini incelemişlerdir. Bahsedilen metal iyonlarının sorpsiyonunda optimum pH'sı sırasıyla yaklaşık 6.0, 8.0, 8.0 ve 6.0 olarak belirlemişlerdir. Co(II) ve Mn(II) için sırasıyla adsorban kapasitesini 29 ve 22 mol/g olarak bulmuşlardır. Optimum şartlarda Fe(III), Co(II), Mn(II) ve Cr(III) geri kazanımları % 95 güven seviyesinde sırasıyla 99 ± 3 , 99 ± 2 , 98 ± 3 ve 98 ± 3 olarak bulmuşlardır. Zenginleştirme faktörü 25 olarak uygulanıp dedeksiyon limitlerini sırasıyla 3.6, 3.0, 2.8 ve 3.6 ng/mL bulmuşlardır. Önerilen zenginleştirme yöntemi su örneklerine, bebek mamalarına ve standart referans madde olan peynir altı suyu tozu (IAEA-155) ve alüminyum alaşımına (NBS SRM 85B) uygulamışlardır. Tüm örneklerde analitlerin bağıl hatalarını % 10'un altında belirlemişlerdir.

Soylak ve ark. (2006), Diaion HP-2MG üzerine immobilize edilmiş *Aspergillus fumigatus* Cu(II), Pb(II), Zn(II), Fe(III), Ni(II) ve Co(II) iyonlarının biyosorpsiyonunu incelemişlerdir. *A. fumigatus* miktarları, elüent tipi, örnek ve elüentin akış hızının analitik koşullarını belirlemişlerdir. İyi geri almaları doğal sulara alkol katarak elde etmişlerdir. Matriks iyonlarının etkilerini de incelemişlerdir. Dedeksiyon limitlerini (3s, N=11), Cu için 0.30 g/L, Fe için 0.32 g/L, Zn için 0.41 g/L, Pb için 0.52 g/L, Ni için 0.59 g/L ve Co için 0.72 g/L olarak bulmuşlardır. Yöntemin bağıl standart sapma değerini % 7'nin altında elde etmişlerdir. Yöntemin doğruluğu için üç standart referans maddeden yararlanmışlardır (NRCC-SLRS 4 Nehir Suyu, SRM 1515 Elma Yaprakları ve GBW 07605 Çay). Yöntemi başarıyla doğal sularda, mikrodalgada çözünürleştirilmiş sokak tozu, salça, siyah çay vb. analit iyonlarının tayini için uygulamışlardır.

Doğru ve ark. (2007), eser metal saptamada yeni bir biyosorbent olarak kullanılan Amberlit XAD-4 üzerine *Bacillus subtilis* immobilize etmişlerdir. Ölü bakteri bileşeni Amberlit XAD-4 reçinesine bağlanarak Cu ve Cd iyonları biyosorbe edilmiş ve FAAS ile tayinlerini yapmışlardır. pH, adsorbent miktarı, elüentin tipi ve hacmi, solüsyonun akış hızı, matrix girişimi etkisi, metal iyonlarının alıkonması gibi çeşitli parametreleri çalışmışlardır. Cu ve Cd'un kantitatif sorpsiyon optimum pH değerlerini 7.0 ve 7.5 olarak bulmuşlardır. Bu metal iyonları 1 M HCl ile desorbe etmişler ve geri kazanımı % 96-100 olarak tespit etmişlerdir. Reçinenin sorpsiyon kapasitesini Cu ve Cd için sırasıyla; 0.0297 ve 0.035 mmol/g olarak bulmuşlardır. Aynı zamanda bazı elektrolitlerin dedeksiyon limitlerini de çalışmışlardır. Önerilen zenginleştirme metodu nehir ve kuyu suyu örneklerine ve standart referans maddelere uygulamışlardır.

Tüzen ve ark. (2007), *Bacillus sphaericus* mikroorganizmasının Diaion SP-850 reçinesine immobilizasyonu ile Cu(II), Pb(II), Fe(III) ve Co(II) iyonlarının biyosorpsiyonunu incelemişlerdir.

Tüzen ve ark. (2005), atomik absorpsiyon spektrometresi ile çevresel numunelerdeki Cd ve Pb iyonlarının tayininden önce Chromosorb-106 reçinesi üzerine 1-(2-pridilazo) 2-naftol(PAN)'ı tutuklamış katı faz ekstraksiyonu için bir önderiştirme/ayırma yöntemi geliştirmişlerdir. Önderiştirme yöntemi Cd ve Pb iyonlarını içeren model çözeltileri kullanılarak optimize etmişlerdir. Model çözeltilerin pH'ı, PAN miktarları, elüent türü ve hacminin etkisini incelemişlerdir. Aynı zamanda numunelerin matrix içeriklerinin etkilerini araştırmışlardır. Gerçek numunelerden Cd ve Pb iyonlarının ayrılmasını kantitatif olarak gerçekleştirmişlerdir. Geliştirilen yöntem mikrodalga ile çözünürleştirilen standart referans maddenin (IAEA-336 Lichen ve SRM 1515 Elma yaprakları) analizi ile kontrol etmişlerdir. Önderiştirme yöntemini doğal su numunelerinin Pb ve Cd içeriklerine uygulamışlar ve bazı tuzlarda iyi sonuçlar elde etmişlerdir (geri kazanım % 95'den büyük, bağıl standart sapma % 8'den küçük).

Tüzen ve ark. (2008), tarafından yapılan çalışmada çevresel örneklerdeki Cd(II), Pb(II), Mn(II), Cr(III), Ni(II) ve Co(II), Chromosorb 101 reçinesine immobilize edilmiş *Bacillus thuringiensis var. israelensis* ile ayırma ve zenginleştirilmeleri için yeni bir katı faz olarak kullanmışlardır. pH, örnek hacmi, elüent türleri gibi analitik parametrelerin analitlerin kantitatif olarak geri kazanılmasına etkisini incelemişlerdir.

Doğal ortamda beraberinde olabilecek bazı metal iyonlarının etkilerini araştırmışlardır. Optimize edilmiş koşullar altında, analit iyonları için dedeksiyon limitleri 0.37-2.85 mg/L aralığında bulmuşlardır. Geliştirilen yöntemin doğruluğu IAEA 336 Liken ve NIST SRM 1573a domates yaprakları sertifikalı referans madde tarafından doğrulamışlardır. Yöntem kırmızı şarap, pirinç ve konserve balık numuneleri ile deniz suyu, kaynak suyu ve idrar örneklerinde analitlerin belirlenmesinde başarıyla uygulamışlardır.

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

Sheng ve ark. (2004), tarafından yapılan çalışmada, *Sargassum sp.*, *Padina sp.*, *Ulva sp.* ve *Gracillaria sp.*'nin kurşun, bakır, kadmiyum, çinko ve nikel için biyosorpsiyon performanslarını araştırmışlardır. pH'ın biyosorpsiyon kapasitesini önemli derecede etkilediği ve verimli bir ağır metal giderimi için yüksek pH'ın avantaj olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca her bir algin çalışılan ağır metaller için farklı adsorpsiyon kapasitesine sahip olduğunu bulmuşlardır.

Zouboulis ve ark. (2004), kirlenmiş atık sulardan ağır metallerin temizlenmesi ve etkili bir şekilde ayrılması için biyolojik materyallerin kullanımı konvensiyonel iyileştirme tekniklerine potansiyel bir metod olarak ortaya çıkarılmıştır. İzole edilmiş (metal yüklü) topraklardan, (*Bacillus laterosporus* veya *Bacillus licheniformis*) gibi mikroorganizmaların kullanımıyla sulu çözeltilerden toksik metallerin biyosorpsiyonunu gerçekleştirmişlerdir (Mikroorganizmaların küçük boyutlarından dolayı yüksek yüzey alanlı hacim oranlarına sahiptir ve bu nedenle çevredeki metallerle

etkileşim içinde olan ara yüzeye geniş bir temas sağlayabilirler). İki toksik metalden bir kation (Cd) ve bir oksianyon (altı değerlikli Cr) ile çalışmış optimize edilmiş şartlar altında gelecek vadeden sonuçlar elde etmişlerdir.

Tunçeli ve Türker (2000), tarafından yapılan çalışmada, Amberlit XAD-16, mini dolgulu kolona doldurularak, asidik ortamda bulunan gümüşün pH, örnek çözelti hacmi, akış hızı, elüasyon çözelti türü ve hacmi gibi zenginleştirme şartlarını incelemişlerdir. Potasyum tiyosiyanat ve standart gümüş çözeltilerini karıştırarak gümüşün stok çözeltisini hazırlamış ve hazırlanan çözeltinin pH'ı HNO₃ ile 2.0'ye ayarlandıktan sonra dakikada 2.5 mL akacak şekilde kolondan geçirmişlerdir. Kolonda tutunan metal iyonlarını geri almak için 10 mL 1 M potasyum siyanit çözeltisini kullanmışlardır. Ag için gözlenebilirlik sınırı 0.047 mg/L olarak bulmuşlardır. Amberlit XAD-16 üzerine Ag'nin adsorpsiyonu Langmuir eşitliğinden hesaplayarak maksimum adsorpsiyon kapasitesi 4.66 mg/g olarak bulmuşlardır. Önerilen zenginleştirme metodu standart referans maddelere de uygulamışlardır.

Ferreira ve ark. (2000), tarafından yapılan çalışmada, doğal su örneklerinde eser miktarda bulunan bakır iyonunun ayırma ve zenginleştirme şartlarını incelemişlerdir. Çalışma, Amberlit XAD-2'ye bağlanmış kalmajit bileşiklerinin eser miktardaki bakır iyonunu absorplamasına dayanmaktadır. Bunun için 0.5 g modifiye edilmiş reçine kullanılarak örnek hacmi 25'ten 250 mL'ye kadar ve pH 3.7 ile 10.0 arasında ayarlanarak bakır miktarı 0.0125 ile 25.0 µg arasındaki çözeltilerin zenginleştirilmesine çalışmışlardır. Kolonda tutunan bakır iyonlarını geri almak için 2 M 5 mL HCl kullanmışlardır. Önerilen yöntem için 250 mL örnek hacmi içinde gözlenebilirlik ve tayin sınırı 0.15 ve 0.50 µg/L olarak bulmuşlardır. Yabancı iyonların etkisini incelemişlerdir. Metodun doğruluğunu kontrol etmek için metod, biyolojik standart referans örneklerle uygulamışlardır. Ayrıca geliştirilen zenginleştirme metodu, farklı yerlerden toplanan doğal su örneklerine uygulamışlardır. Analizleri alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile tayin etmişlerdir.

Lee ve arkadaşları (2001), tarafından yapılan çalışmada, XAD-16 reçinesine immobilizasyon ile TAN'ın bağlanmasını sağlayarak içerisinde Zr, Hf ve U'nda bulunduğu 19 elementin tayin edilebilmesi için yöntem geliştirmişlerdir.

Narin ve arkadaşlar (2003), tarafından yapılan çalışmada, Amberlit XAD-16 reçinesine bağlanmış 1-(2-piridilazo) 2-naphtol ile ve doğal su örneklerinden Ni(II), Cd(II), Co(II), Cu(II), Pb(II) ve Cr(II) metal iyonlarının zenginleştirme çalışmalarını yapmışlardır. En yüksek geri kazanım % 95'in üzerinde olup 2 M HCl çözeltisi ile elde etmişlerdir. Analit iyonlarının kolondan en yüksek verimle geri kazanımı için pH, örnek hacmi gibi parametreleri belirlemişlerdir.

Ghaedi ve ark. (2009), tarafından yapılan çalışmada Eser metal iyonlarının zenginleştirilmesi için yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. Yöntem Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} ve Cd^{2+} iyonlarının, 2, 4, 6, 8-tetra(2-hidroksifenil)-1, 3, 5, 7(1,3)tetrabenzensiklooktapan-14, 16, 34, 36, 54, 56, 74, 76-octol (salisilaldehit calix4 resorcinarenes)(yeni resorcinarenes türevi) ile modifiye olan Amberlite XAD-16 üzerinde adsorpsiyonuna dayanmaktadır. Adsorbe olan analit iyonları 6 mL aseton içinde 3 M HCl elüe edilip sonra atomik absorpsiyon spektroskopisi ile tayin etmişlerdir. pH, ligand miktarı ve katı faz içeriği, elüent türü ve örnek hacmi olmak üzere analitik parametrelerin etkilerini incelemişlerdir. Matriks iyonlarının ayırma ve kararlılıkla interfer etkisini gözlemleyememişlerdir. Zenginleştirme faktörünü 208 olarak bulmuşlardır. Optimum şartlarda bağıl standart sapma % 4.10'dan daha düşük olarak bulmuşlardır. Yöntemin doğruluğunu farklı gerçek örnekler kullanarak test etmişlerdir.

Ghaedi ve ark. (2010), katı faz ekstraksiyonu sonrası gerçek örneklerde Cu^{2+} , Zn^{2+} ve Mn^{2+} iyonlarının FAAS ile tayini için basit ve seçici bir yöntem geliştirmişlerdir. Yöntem, pH 5.0'de metal iyonlarının 3-((2,6-diklorofenil)(1H-indol-3-yl)metil)-1H-indol(DCPIMI) ile modifiye edilmiş Amberlite XAD-16 da tutunmasına dayanmaktadır. Ligandla kompleksleşme sonrasında elde edilen katı faz üzerinde tutulan metal iyonlarını, 6 mL aseton içindeki 4 M nitrik asit ile elüe etmişlerdir. Optimum geri kazanım elde etmek için elüasyon çözeltisi, örnek ve çözelti akış hızı, ligand miktarının etkisi gibi parametreleri araştırmışlardır. Önderiştirme faktörünü 225 olarak elde etmişlerdir. Katı fazdan 1350 mL örnek geçirerek dedeksiyon limitini (LOD) Cu^{2+} , Zn^{2+} ve Mn^{2+} iyonları için sırasıyla 1.9, 1.5 ve 2.6 ng/mL olarak bulmuşlardır.

V. Oral ve ark. (2011), tarafından yapılan çalışmada Cu(II) ve Cd(II) iyonlarının zenginleştirilmesi ve FAAS'de tayinleri için yeni şelat reçinesi, modifiye Amberlit

XAD-16-1,6 bis(2-karboksi aldehit fenoksi) bütan ligandını sentezlemişlerdir. Sentezledikleri şelat ligandını elementel analiz ve FT-IR ile karakterize etmişlerdir. Cu(II) ve Cd(II) iyonlarını sırasıyla pH 4.0 ve pH 6.0 da sentezledikleri mini kolonda kantitatif olarak zenginleştirmişlerdir. Bu iyonları 5 mL 0.5 mol/L HCl ile elüe etmişlerdir. Cu(II) ve Cd(II) için geri kazanımları sırasıyla 100 ± 2.15 ve 100 ± 1.40 (N=5) olarak bulmuşlardır. Cu(II) ve Cd(II) iyonlarının FAAS ile tayinlerde (3s, N=20) gözlenebilme sınırını sırasıyla 0.33 ve 1.19 $\mu\text{g/L}$ olarak bulmuşlardır. Yabancı iyonların geri kazanım verimi üzerine etkisini incelemişlerdir. Geliştirdikleri metodu topladıkları gerçek örneklerle, Dicle nehir suyuna ve Elazığ Maden çayı suyuna uygulamışlardır. Önerdikleri yöntemin doğruluğunu standart referans madde (NCS-DC 73350)'de analiz ederek kontrol etmişlerdir.

Marahel ve ark. (2011), çevresel örneklerdeki eser ağır metal iyonlarının zenginleştirilmeleri için bir yöntem geliştirmişlerdir. Yöntem Cr^{3+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} ve Zn^{2+} iyonlarının 2-(2,4-diklorobenzildeneamino) benzentiyl şelat ile modifiye edilmiş Duolite XAD 761 üzerinde sorpsiyonuna dayanmaktadır. Tutulan metal iyonlarını 6 mL 4 M nitrik asit ile elüe etmişlerdir. pH, ligand ve katı faz miktarı, elüasyon çözeltisinin türü, matriks iyonlarının etkisi gibi analitik parametrelerin etkilerini incelemişlerdir. Analitlerin geri kazanımı genel olarak % 94'den daha yüksek ve BSS % 1.5 - % 2.2 arasında bulmuşlardır. Yöntemi bazı gıda örneklerinde başarıyla uygulamışlardır.

2.8. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi

Atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS), elektromanyetik ışının gaz halindeki atomlar tarafından absorpsiyonun ölçülmesi ilkesine dayanır. Işını absorplayan atomlar, temel enerji düzeyinden kararsız uyarılmış enerji düzeylerine geçerler ve absorpsiyon miktarı temel düzeydeki atom sayısına bağlıdır. Bir elementin atomik absorpsiyon spektroskopisiyle analizini yapmak için o elementin önce nötral hale, sonra buhar haline gelmesi ve daha sonra da bir kaynaktan gelen elektromagnetik ışın demetinin yoluna dağılması gerekir. İlk aletsel ve analitik uygulamaları 1950'lerden sonra başlayan AAS, günümüzde pek çok elementin kantitatif tayininde yaygın olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda atomik spektroskopi alanında ICP, lazer teknikleri ve Elektrotermal

atomlaştırıcı AAS kullanımı popülerdir. Alevli teknikler ucuz, pratik ve kullanımı kolay olduğundan analitik uygulamalarda daha çok tercih edilmektedir (Yılmaz 2006).

2.8.1. Atomik Spektroskopi

Atomik spektroskopi, gaz halindeki atomların veya gaz halindeki tek atomlu iyonların absorpsiyon, emisyon ve floresans özellikleri üzerine kurulmuş spektroskopi dalıdır (Gündüz 2005). Atomik spektroskopi, nicel ve nitel analizler için oldukça fazla kullanılır. X-ışını, morötesi veya görünür bölge ışınının soğurum ve yayılımı ilkesine dayanır. Morötesi veya görünür bölgedeki atomik spektrum, örneğin atomlara ayrışmasıyla elde edilir. Bileşiği oluşturan moleküller, bir işlemle bozunarak atomlarına ayrıştırılır ve element gaz taneciklerine dönüştürülür. Atom halindeki elementin hem yayılım hem de soğurum spektrumu her element için karakteristik olup birbirinden farklı dalga boylarında ve genişliği birkaç Å'dur. Bu dalga boylarından her birine atomun hattı denir (İnce 2005).

2.8.1.1. Hat Genişlemesi

Atomik absorpsiyon hatları çok dardır (10^{-5} nm). Ancak, bazı yan etkileri bu hatları genişletir. Bu etkiler başlıca olarak; doğal genişleme, izotop genişlemesi, stark ve zeeman genişlemesi, doppler genişlemesi ve çarpışma ile genişlemedir.

Doğal genişleme atomun E1, E2 gibi enerji seviyelerindeki belirsizliğinden ileri gelir yani uyarılan bir elektronun uyarıldığı enerji seviyesinde ne kadar süreyle kaldığını belirlemek için yapılan ölçmedeki belirsizliktir. Elektron böyle bir uyarılma enerji seviyesinde çok kısa sürede (10^{-7} ve 10^{-8} sn) kalır ve bir alt enerji seviyesine geçer. Bu kadar kısa zaman aralıklarını ölçmek çok zordur. Bu seviyelerdeki belirsizlik, enerji belirsizlikleriyle, elektronun bu seviyelerdeki kalma süreleri çarpımı kadardır. Bu şekildeki genişleme çok küçük olur, 10^{-5} nm kadardır ve öteki genişlemeler yanında ihmal edilebilir.

İzotop genişlemesi söz konusu elementin izotoplarının olması halinde görülür. Bu şekilde meydana gelen genişleme 10^{-4} nm kadardır.

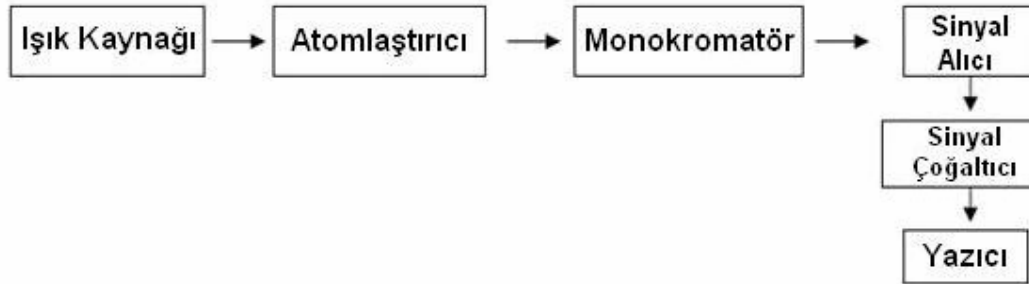
Stark ve zeeman genişlemeleri, atomların elektron düzenimlerinin elektrik (stark) ve manyetik (zeeman) alanlarda değişmesinden ileri gelir. Bu şekildeki genişleme 0.005 nm kadardır.

Doppler genişlemesinde, ışığın kaynağına doğru giden hızlı hareket eden atomların absorpladığı (veya yaydığı) ışının dalga boyunun dedektöre doğru giderken azalması, ters yöne giderken artması olayına denir. Böylece absorpsiyon daha geniş bir aralıkta olur.

Çarpışma genişlemesi, temel halde bulunan ve tayini yapılan atomlarla öteki atom veya moleküllerin çarpışmalarından ileri gelir. Çarpışma sonucu temel halde bulunan atomlar farklı enerji seviyelerine çıkarlar ve dolayısıyla farklı ışınlar absorplanır. Sıcaklık ve basınç yükselmesi çarpışmayı arttıracığından genişlemeyi de artırır (Timür 2009).

2.8.2. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi ile İlgili Genel Bilgiler

Atomik absorpsiyon spektroskopisi, hem eser hem de yüksek derişimlerdeki metalik elementlerin tayini için yaygın olarak kullanılan evrensel bir analitik metottur. Bu metodun uygulandığı analitik cihazlara atomik absorpsiyon spektrometresi denir. Şekil 2.5’de atomik absorpsiyon spektrometresi şematik olarak gösterilmektedir. Atomik absorpsiyon spektrometresi ışık kaynağı, atomlaştırıcı, monokromatör ve alıcıdan (dedektör) oluşur (Yılmaz 2006).



Şekil 2.5. AAS'nin blok şeması (Ercan 2008)

2.8.2.1. Işın Kaynakları

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde incelenen element çok dar dalga boyu aralığında absorpsiyon yapmaktadır. Bu nedenle emisyon hattı dar olan ışık kaynakları kullanılır. Atomik absorpsiyon spektroskopisinde kullanılan ışık kaynakları; oyuk katot lambaları, elektrotsuz boşalım lambaları, yüksek ışımalı lambalar, sürekli ışın kaynaklarıdır (Şahan 2006).

-Oyuk Katot Lambaları

Atomik absorpsiyonda en yaygın kullanılan ışık kaynağıdır. Oyuk katot lambası düşük basınçta inert bir gazla doldurulmuş bir katot ve anot içeren cam bir silindirdir (Şekil 2.6). Katot incelenen elementin çok saf metalinden veya o elementi içeren bir alaşımdan yapılmıştır. Anot ise nikel, tungsten gibi metallere yapılmıştır.



Şekil 2.6. Oyuk katot lambası

Elektrotlar arasına 100-400 volt'luk bir gerilim uygulandığında 1-50 mA'lık bir akım oluşturulur. İnert gaz atomları iyonlaşır. İyonlar yüksek hızla katoda çarpar ve katot yüzeyindeki atomlardan bazılarını koparıp gaz fazına geçirir. Bu atomların bir kısmı, iyon ve elektronlarla çarpışarak uyarılırlar. Uyarılmış atomlar temel hallerine dönerken katot elementinin karakteristik spektrumunu yayarlar.

-Elektrotsuz Boşalım Lambaları

Elektrotsuz boşalım lambalarında tayin edilecek element yüksek frekans sarımlarına sıkıca yerleştirilmiş ve yalıtılmış bir ceket içinde bulunan kuartz bir tüp içine doldurulmuştur. Bu lambaların ışık şiddeti yüksek, ısınma süresi kısa ve kararlılığı iyidir. As, Se ve Sb gibi uçucu ve kısa dalga boylarında (< 200 nm) absorpsiyon ve emisyon yapabilen elementler için geliştirilmişlerdir. Oyuk katot lambalarından yüzlerce defa daha şiddetli ışın demetleri verirler.

-Yüksek Işımalı Lambalar

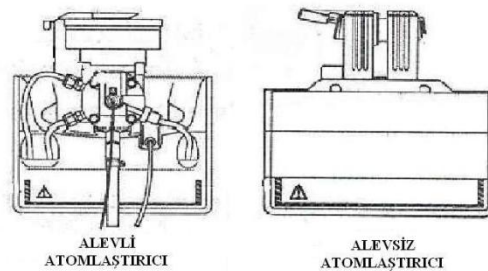
Yüksek ışımalı lambalarda standart oyuk katot yanında bir çift de yardımcı elektrot vardır. Yardımcı elektrotlardan ikinci bir akım geçirilerek oluşturulan atom bulutunda ilk boşalımda uyarılmayan atomlar da uyarılır. Böylece ışık şiddetinde artış görülür. Yüksek ışımalı lambalar, yapılarının karmaşıklığı, ikinci bir güç kaynağı gerektirmesi, emisyonun kararlı hale gelmesi için uzun süre beklenmesi nedeniyle fazla tercih edilmemektedir (Şahan 2006).

-Sürekli Işın Kaynakları

Sürekli ışın kaynaklarının absorpsiyon hatlarının dar olması, yüksek kalitede bir monokromatörle bile analitik doğrusalıktan sapma gözlendiğinden ve yüksek absorpsiyonlarla çalışılmak mümkün olmadığından dolayı çok kısa bir zamana kadar bu lambalar atomik absorpsiyon spektrofotometresinde kullanılmıyordu. Son yıllarda CCD (Charge Coupled Device) dedektörlerinden yararlanarak özel olarak üretilen yüksek şiddetli sürekli ışın kaynaklarının kullanıldığı atomik absorpsiyon spektrofotometreleri geliştirilmiştir. Bu sayede çok sayıda element hemen hemen aynı anda tayin edilerek AAS'deki her element için lamba değiştirme dezavantajı ortadan kaldırılmıştır (Harnly ve ark. 1997, Harnly 1999).

2.8.2.2. Atomlaştırıcılar

Örnek içindeki analiz edilecek maddenin temel haldeki serbest atomlarına dönüştürülmesi işleminin gerçekleştirildiği yere atomlaştırıcı bu işleme de atomlaştırma denir başka bir deyişle numunelerin uygun bir sıcaklıkta atomlar (atom buharı) veya tek atomlu iyonlar haline getirilmesine atomlaştırma denir. Kantitatif tayinin doğruluk derecesi ve kesinliği büyük ölçüde atomlaştırma işlemine bağlıdır. İyi bir atomlaştırıcının örneğin hemen hemen hepsini atomlaştırması gerekir. Genellikle örnek atomlaştırılması için iki tip atomlaştırıcı kullanılır. Bunlar alevli ve alevsiz diye ikiye ayrılır (Şekil 2.7). Alevsiz atomlaştırıcılar grafit fırın (elektrotermal) atomlaştırıcısıdır (Uluözlü 2010).



Şekil 2.7. Atomlaştırıcılar

-Alevli Atomlaştırıcılar

Alevli atomlaştırıcıda atomlaşmanın olacağı alev içine numune çözeltisi yanıcı-yükseltgen gaz karışımı akışıyla taşınıp püskürtülür. Alevli atomlaştırıcılar 5 veya 10 cm uzunlukta alev yoluna sahiptirler. Burada atomlaştırma için her elemente özgü farklı

miktarlarda ve karışımlarda yanıcı ve yakıcı gazlar kullanılır. Alevli AAS'de bu gaz oranı ayarlanarak, temel düzeyde bulunabilecek serbest atomların sayısı yükseltilecek, emisyon ya da iyonlaşma gibi bozucu etkiler minimuma indirilebilir. Alevli atomlaştırıcılarla 1800-3100 °C arasında atomlaştırma sıcaklıkları elde edilebilir. Alevli atomik absorpsiyon spektrometresinde alevin oluşturulması için kullanılan yakıcılar ön karıştırmalı ve ön karıştırmaz olmak üzere iki türdür. Yaygın olarak kullanılanı ise ön karıştırmalı atomlaştırıcılarıdır. Alev sıcaklığı AAS'de çok önemlidir çünkü her element farklı sıcaklıklarda tam olarak atomlaşmaktadır. Tam istenen sıcaklık yanıcı/yakıcı gaz oranına bağlıdır (Uluözlü 2010).

En çok kullanılan alev türleri ve bunların maksimum sıcaklıkları Çizelge 2.3'de verilmiştir. Bakır, kurşun, çinko ve kadmiyum gibi kolay atomlaşan elementler için düşük sıcaklığa sahip alevler, örneğin doğal gaz-hava alevi kullanmak yeterlidir. Toprak alkali metaller gibi kararlı oksitler oluşturan elementler için asetilen hava alevi ile duyarlı sonuçlar alınabilir. Alüminyum, berilyum, silisyum, vanadyum ve nadir toprak elementleri ise çok kararlı oksit oluştururlar. Bunların atomlaşması için ise çok yüksek sıcaklığa sahip asetilen-diazotoksit veya asetilen-oksijen alevlerinin kullanılması gerekir (Kara 2006).

Çizelge 2.3. Alev türleri

Yanıcı Gaz	Yakıcı Gaz	Sıcaklık (°C)
Doğal Gaz	Hava	1800
Propan	Hava	1900
Asetilen	Hava	2300
Asetilen	Oksijen	3100
Asetilen	N ₂ O	2800

-Elektrotermal Atomlaştırıcılar

Alevsiz atomlaştırıcılara elektrotermal atomlaştırıcılar da denir. Alevsiz atomlaştırıcılar alevli atomlaştırıcılara göre daha düşük gözlenebilme sınırına sahip olması ve çok az miktarda örnekle çalışma olanağı sağlamaları nedeniyle geliştirilmişlerdir. Bunlar arasında grafit fırınlı atomlaştırıcılar günümüzde çok yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.8.2.3. Monokromatörler (Dalgaboyu Seçicileri)

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

2.8.2.4. Dedektörler (Alıcılar)

Dedektörler ışın kaynağından gelen ışının şiddetinin ölçülmesi amacıyla kullanılan bileşenlerdir. Işığın elektrik sinyaline dönüştürürler. Bir dedektörün, ışığa karşı duyarlı olması, ışın şiddeti ile doğru orantılı bir sinyal üretmesi, üzerine düşen ışığa cevap verme yani sinyal üretme süresinin kısa olması, kararlı olması ve üretilen elektriksel sinyalin yardımcı devrelerle çoğaltılabilmesi gibi özelliklere sahip olması istenir (Çalışır 2008).

2.8.3. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Girişimler

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde nicel tayinler referans madde ile karşılaştırma şeklinde yapıldığından, numune kabında atomlaştırıcıya kadar olan işlemlerde, çözeltinin fiziksel özelliği ve atomlaşma esnasında ortamın fiziksel ve kimyasal özellikleri, analiz elementinin soğurma sinyalini pozitif veya negatif yönde etkilemesi, örneğin referans maddesine göre herhangi farklı bir davranış sergilemesine yol açar. Bu şekilde sonucu etkileyen tüm etkenler girişim olarak adlandırılır. Girişimler, nedenlerine bağlı olarak;

- Kimyasal girişimler,
- Fiziksel girişimler,
- Spektral girişimler,
- İyonlaşma girişimleri,
- Zemin girişimleri olarak sınıflandırılırlar (İnce 2005).

2.8.3.1. Kimyasal Girişimler (Engellemeler)

Kimyasal girişimler, analitin absorpsiyon karakteristiklerini değiştiren ve atomlaşma sırasında oluşan kimyasal işlemlerden dolayı oluşur.

Kimyasal girişimlerin ortaya çıkmasının başlıca iki nedeni vardır. Bunlardan biri zor eriyen veya buharlaşan tuz oluşması ve bu moleküllerin tam olarak ayrışmasıyla meydana gelen girişimler, diğeri ise serbest atomların ortamda bulunan öteki atom veya radikallerle tepkimeye girerek başka formlara dönüşmesiyle oluşur.

Alevde karşılaşılan kimyasal girişimlerden en önemlisi, serbest atomların ortamda bulunan başka atom veya radikallerle tepkimeye girmesidir. Serbest metal atomlarıyla alevin yanma ürünlerinin birleşmesi sonucu, oksitler, hidroksitler, karbürler veya nitrürler oluşur. Bu girişimin sonucu olarak; 30 kadar metalik element hava/asetilen alevinde kararlı oksitler oluşturduklarından tayin edilemezler.

Örnek matriksinin neden olduğu kimyasal girişimler de söz konusudur. Eğer bir örnekte standarda göre daha az ayrışan moleküller oluşuyorsa, incelenen metalin derişimi düşük bulunacaktır. Buna karşılık standarda göre daha kolay ayrışan moleküller oluşuyorsa, sinyal artışı gözlenecek ve derişimde pozitif bir hata oluşacaktır.

Birçok kimyasal girişim alev sıcaklığının yükseltilmesiyle uzaklaştırılabilir, bunun dışında girişimler kimyasal olarak da giderilebilir. Girişim yapan iyonlar standart çözeltiliye eklenir ve bu şekilde, örnek matriksi ve standart çözeltiler birbirine benzetilebilir. Diğeri bir şekilde oluşan girişimin giderilmesinde, girişim yapan anyon, örnek çözeltilisine aşırı eklenen başka bir katyonla bağlanabilir veya tayin edilecek katyon kompleks içinde tutularak bu şekilde kimyasal girişim giderilebilir.

Kimyasal girişimler, spektral girişimlerden daha yaygındır. Kimyasal girişim etkileri çoğunlukla uygun çalışma koşulları seçimiyle minimuma indirilebilir.

2.8.3.2. Fiziksel Girişimler

Fiziksel girişimler, çözeltilerin viskozitesi, yüzey gerilimi ve özgül ağırlığı gibi fiziksel özelliklerinin örnek ve referans madde de farklı olması nedeniyle ortaya çıkar. Çözeltilerin sisleşme verimi; yüzey gerilimi, viskozite ve yoğunluğa bağlıdır. Çünkü bu özellik damlacık boyutunu tayin eder. Eğer bir çözeltiliye fazla miktarda tuz eklenirse daha az örnek emilir, damlacıklar büyür ve aleve ulaşan örnek miktarı azalır.

Organik çözücülerin viskozite ve özgül ağırlığı sudan daha az olduğu için bunların püskürtülmeleri daha kolay olur. Daha düşük yüzey gerilimi, sisleşmenin daha iyi olmasını ve dolayısıyla birim zamanda daha fazla örneğin aleve ulaşmasını sağlar.

Fiziksel engellemeler, örnek ve standart çözeltilerin fiziksel özellikleri birbirine benzetilerek giderilebilir (Timür 2009).

2.8.3.3. Spektral Girişimler

Spektral engellemeler, ışınların saçılmasına sebep olan katı tanecikli ürünlerden veya geniş bant absorpsiyonu oluşturan yanma ürünlerinden ileri gelir. Her ikisi de gelen ışının gücünü zayıflatır ve pozitif analitik hataya yol açar. Bu ürünlerin kaynağı yalnızca yanıcı ve yükseltgen karışım olduğunda, düzeltmeler bir tanık çözelti aleve püskürtülerek absorban ölçümünün yapılmasıyla kolayca sağlanabilir. Bu düzeltmenin tek-ışın yollu cihazda olduğu gibi, çift-ışın yollu cihazlarda da yapılması gerekir. Çünkü referans ışını alev içinden geçemez.

Absorpsiyon ve saçılmanın kaynağı numune matrisi ise daha büyük sorunlarda ortaya çıkar. Bu durumda, geçen ışın gücü P , matris bileşenleri tarafından azaltılır, fakat gelen ışın gücü P_r , azaltılmaz. Sonuçta absorbansta, dolayısıyla konsantrasyonda pozitif hata olur.

Absorpsiyondan ileri gelen potansiyel matris girişiminin bir örneği, toprak alkalilerin karışımında, baryum tayininde görülür. Atomik absorpsiyon analizinde kullanılan baryum çizgilerinin dalga boyu, Ca(OH)_2 'den kaynaklanan geniş absorpsiyon bandının merkezinde yer alır. Baryum analizinde, kalsiyumun girişim yapacağı açıktır. Bu özel problem, Ca(OH)_2 'nin bozunması ve ona ait absorpsiyon bandının giderilmesi için daha yüksek bir sıcaklık ve bunun için yükseltgen olarak hava yerine nitroz oksidin seçilmesiyle kolayca yok edilir.

Ti, Zr, W gibi refrakter oksitler veren bazı metallerin derişik çözeltileri aleve püskürtülünce atomlaşma ürünleri arasında ışınları saçabilen katı tanecikler de oluşur. Böyle hallerde de spektral girişim görülür. Katı taneciklerin boyutu, ışının dalga boyundan büyükse, bu saçılmalar olur.

Saçılmadan ileri gelen girişimler, numunenin organik türler içerdiği veya numuneyi çözmede organik çözücüler kullanıldığında da bir problem olabilir. Burada,

organik matriksin tam olmayan yanma ürünleri, ışın saçılmasına sebep olan karbonlu tanecikler oluşturur.

Alev atomlaştırmada, matriks ürünlerinin spektral girişimleriyle, fazla karşılaşmaz ve çoğu zaman sıcaklık ve yanıcı/yükseltgen oranı gibi analitik değişkenler ile önlenir. Eğer girişimin kaynağı bilinirse, girişim yapan maddenin aşırısı numune ve standartlara ilave edilebilir.

2.8.3.4. İyonlaşma Girişimleri

Özellikle yüksek sıcaklıktaki alevde birçok element az veya çok iyonlaşır; bu durumda temel düzeydeki toplam atom sayısı da azalacağından duyarlılık da azalır. İyonlaşma girişimi iki yolla giderilebilir. Atomlaşma daha düşük sıcaklıktaki bir alevde yapılabilir. Örneğin alkali metaller hava/asetilen alevinde önemli ölçüde iyonlaştıklarından daha soğuk olan hava/hidrojen alevinde iyonlaşmadan atomlaştırılabilirler. Ancak bu yöntem elementlerin çoğu için uygun değildir çünkü soğuk alevde atomlaşma verimi azalır ve kimyasal girişimler ortaya çıkar. İyonlaşma girişimi giderilmesi için örnek ve standart çözeltilerine potasyum ve sezyum gibi kolaylıkla iyonlaşan elementler eklenebilir, bu şekilde iyonlaşma girişimi giderilebilir.

2.8.3.5. Zemin Girişimleri

Örnek çözeltilerinde bulunan çok atomlu türlerin ışığı absorplaması analizde çok ciddi sorunlara neden olur. Bu durum alevsiz AAS'de en önemli hata kaynağıdır. Zemin engellemesine küçük parçacıkların ışığı saçmasının da katkısı vardır.

Absorpsiyon hücrelerinde bulunan molekül ya da radikallerin ışığı absorplaması, alevli ve özellikle grafit fırınlı atomlaştırıcılarda önüne geçilmesi için özel yöntemler gerektiren bir engellemedir (Timür 2009).

2.8.4. Zemin Düzeltme Teknikleri

2.8.4.1. Çift-Çizgi Zemin Düzeltme

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 girişimine neden olan diğer türlerin absorbanslarının toplamına eşittir. İkinci ölçüm ise

analizi yapılan elementin atomlarının absorpsiyon yapmayacağı fakat birinci dalga boyuna çok yakın bir dalga boyunda yapılır. Bu dalga boyu bir asal gaz veya başka bir elementin oyuk katot lambasında elde edilen bir hat olabilir. İkinci dalga boyunda ölçülen absorbans, sadece zemin girişimine neden olan türlere ait absorbanstır. İki ölçüm arasındaki fark, örneğe ait gerçek absorbanans değerini verir (Kara 2006).

2.8.4.2. Sürekli Işın Kaynağı ile Yapılan Zemin Düzeltme

Bu yöntemde oyuk katot lambasına ek olarak, döteryum veya hidrojen lambası gibi geniş bir dalga boyu aralığında ışımaya yapabilen bir ışık kaynağı yerleştirilir. Bu iki kaynağın yaydığı ışınlar bir ışık bölücü yardımıyla ard arda ulaştırılır. Oyuk katot lambasının yaydığı ışık atomlaştırıcıda bulunan analiz elementinin atomları ve zemin girişimlerine neden olan türler tarafından absorplanır. Sürekli ışık kaynağının yaydığı ışığın analiz elementinin atomları tarafından absorplanan kısmı, lambanın yaydığı ışığın şiddetine oranla ihmal edilebilecek kadar azdır. Böylece sürekli ışık kaynağının yaydığı ışımının sadece zemin engellemelerine neden olan moleküller ve diğer türler tarafından absorplandığı kabul edilebilir. İki sinyal arasındaki fark örneğin gerçek absorbanans değerini verir.

2.8.4.3. Zeeman Etkisine Dayanan Zemin Düzeltme

Zeeman yöntemi, bir manyetik alanın uygulanması ile atomik enerji düzeylerinin yarılması olayıdır. Singlet enerji düzeyleri arasındaki geçişlerde manyetik alan varlığında spektral hatlar üçe veya üçlü gruplara yarılmakta ve bu olaya normal zeeman etkisi adı verilmektedir. Singlet düzeyler dışındaki düzeyler arasında gerçekleşen geçişlerde hatların daha fazla sayıda bileşenlere yarılması ise, kural dışı zeeman etkisi olarak adlandırılır. Normal zeeman etkisi olayında oluşan bu spektral bileşenlere π , σ^- , σ^+ bileşenleri adı verilir. Oluşan bu bileşenlerden π bileşeni, söz konusu elementin manyetik alan yok iken absorpsiyon yapacağı dalga boyu ile aynı değere sahipken, σ^- ve σ^+ bileşenleri π bileşenine göre sırasıyla daha büyük ve daha küçük dalga boylarındadır ve her biri π bileşeninin şiddetinin yarısına eşit bir şiddete sahiptir. Manyetik alan varlığında böylece ayrılan bileşenler, ayrıca birbirine dik düzlem dalgalarıdır. π bileşeni manyetik alana paralel olarak yönlenirken, σ^- ve σ^+ bileşenleri manyetik alana dik yönde yönlenirler. Zeeman etkisi ile zemin girişimlerinin düzeltilmesi, bu bileşenlerin farklı yönlerde polarize olması özelliğinden faydalanılır.

2.8.4.4. Kaynak Self-Ters Çevirmeye Dayanan Zemin Düzeltme (Smith-Hieftje Yöntemi)

Oyuk katot lambası normal akımda çalışırsa, ilgilenilen dalga boyunda tek bir pik verir. Eğer akım yükseltirse pik yarılr ve ikiye ayrılır. Normal akımda analit absorbansı ve zemin absorbansı toplam olarak ölçülür. Yüksek akımda yalnızca zemin absorbansı ölçülür. Aradaki fark düzeltilmiş analit absorbansıdır (Kara 2006).

2.8.5. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi ile Elementlerin Kantitatif Tayini

AAS ile genellikle metal tayini yapılır. Bütün elementlerin atomları kendine özgü dalga boyundaki ışınları absorplayıp uyarılınca, uyarılan elektronlar farklı şiddet ve dalgaboylarında absorpsiyon bandı oluşturur. Spektroskopik analizlerde, tayin edilecek bileşenin en şiddetli absorpsiyonun olduğu dalgaboyu seçilir. Bu da temel düzeyden bir üst uyarılmış elektronik düzeye geçişe karşılık gelir. Buna rezonans hattı denir. AAS'de elementlerin kantitatif analizleri için, kalibrasyon doğrusu ve standart ekleme yöntemi kullanılır (Ercan 2008).

2.8.5.1. Kalibrasyon Yöntemi

Lambert-Beer kanununa göre teorik olarak absorbans, derişimle doğru orantılı olarak değişir. Bu yöntem için, tayin edilecek elementin stok standart çözeltilerinden belirli derişimlerde en az üç kalibrasyon çözeltisi hazırlanır. Kalibrasyon ve örnek çözeltilerinin absorbansları ölçülür. Kalibrasyon çözeltilerinin derişimlerine karşılık absorbansları grafiğe geçirilir ve elde edilen noktalar birleştirilerek bir doğru çizilir. Bu grafiğe “kalibrasyon eğrisi” denir. Kalibrasyon eğrisinden yararlanarak, absorbans değerlerine karşı gelen derişim bulunur. Örnek çözeltilerinin absorbansları kalibrasyon eğrisinde absorbansın derişimle doğrusal olarak değiştii aralıkta olmalıdır. Örnek çözeltilerinin absorbansları bu aralığın dışında ise, seyreltme veya deriştirme yolu ile bu aralığa çekilmelidir. Çok sayıda örnek çözeltisine uygulanabilmesi bu yöntemin üstünlüğüdür.

2.8.5.2. Standart Ekleme Yöntemi

Genellikle tayini yapılacak örnek çözeltilerinin zengin bir matrikse sahip olması, kalibrasyon çözeltilerinin ise benzer matrikse sahip olmaması veya benzetilememesi tayinler için önemli bir sorundur. Böyle çözeltilerin analizinde zengin matriksden dolayı oluşabilecek girişimler nedeniyle doğru sonuçlara ulaşmak oldukça güçtür. Standart ekleme yöntemi kullanılarak daha doğru sonuçlara ulaşmak mümkündür (Varhan Oral 2009).

2.8.6. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi Ölçümlerinde Kullanılan Analitik Ölçütler

2.8.6.1. Duyarlık

Okunan absorbans değerlerinin standart çözeltilerin derişimlerine karşı grafiğe geçirilmesiyle elde edilen kalibrasyon eğrisinin eğimi duyarlık olarak tanımlanır. Atomik absorpsiyonda duyarlık özel olarak analiz elementinin net % 1'lik absorpsiyonuna veya 0.0044'lük absorbans değerine karşılık gelen derişim olarak tanımlanmıştır.

2.8.6.2. Doğruluk

Ölçülen bir değer gerçekte bir değere ne kadar yakın olduğunu belirtir ve uygulamada çok sayıda analizin tekrarlanmasıyla bulunan ortalama değer gerçekte değere yakınlığı olarak tanımlanır (Kariper 2008).

2.8.6.3. Kesinlik

Kesinlik, sonucun tekrarlanabilirliğinin bir ölçüsüdür. Yapılan analizlerde sonuçlar birbirine ne kadar yakınsa ölçümlerin kesinliği o kadar yüksektir. Kesinliğin en yaygın kullanılan ölçüsü standart sapmadır (Gündüz 2005).

$$s = \sqrt{\frac{\sum (X_i - X_{ort.})^2}{n-1}}$$

Burada;

s : Standart sapma

x_i : Her bir ölçümün sonucu

x_{ort} : Tüm ölçümlerin ortalaması

n : Ölçüm sayısı

2.8.6.4. Gözlenebilme Sınırı

Bir analitik yöntemin performansı genellikle gözlenebilme sınırı ile ölçülür. Gözlenebilme sınırı alete ve metoda da bağlıdır. Gözlenebilme sınırı (limit of detection, LOD), tayin elementini içermeyen şahit örneklerden elde edilen absorbans değerlerinin standart sapmasının üç katına karşılık gelen derişimdir. Gözlenebilme sınırı teorik olarak analitin tayin edilebilen en küçük derişimi olarak tanımlanır ve $X = (X_{ort} + 3S_{kör})/Z.F.$ eşitliği ile bulunur. X_{ort} , kör çözeltilinin ortalama sinyali ve $S_{kör}$ de standart sapmasıdır, bulunan X absorbans biriminde olup, kalibrasyon doğrusunda karşılık gelen derişimi bulunur. Bulunan bu derişim gözlenebilme sınırıdır. Bir yöntemin ya da cihazın duyarlılığı gözlenebilme sınırını etkileyen bir faktördür (Gündüz 2005).

Zenginleştirme işlemlerinin en önemli amaçlarından biride çalışılan analitin gözlenebilme sınırını düşürmektir. Bu nedenle, zenginleştirme çalışmalarında tayin elementi için bulunan gözlenebilme sınırının, analit için bulunan zenginleştirme katsayısına bölünmesi gereklidir (Varhan Oral 2009).

2.8.6.5. Tayin Sınırı

Tayin sınırı (limit of quantification, LOQ), kullanılan analitin performansı ile ilgili son yıllarda önem kazanan bir terimdir. Normal olarak gözlenebilme sınırı yakınında tayin yapılamaz. Tayinin yapılabildiği derişim gözlenebilme sınırının bazen 5 bazen de 10 katı olarak alınır. Bu değere tayin sınırı denir. Sağlıklı tayinler için en az tayin sınırı kadar bir derişim gereklidir (Gündüz 2005).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Materyaller

3.1.1. Atomik Absorpsiyon Spektrometresi

Bu çalışmada Cu(II) iyonlarının tayininde Perkin Elmer marka 400 model alevli atomik absorpsiyon spektrometresi cihazı kullanılmıştır.

Çalışılan Elementin AAS çalışma şartları;

Element : Cu

Dalga boyu : 324.75 (nm)

Lamba akımı : 15 (mA)

Alev türü : Hava/Asetilen

3.1.2. FTIR Spektrometresi

Mattson 1000 model FTIR spektrometresi kullanılmıştır.

3.1.3. Analitik Terazı

Kullanılan kimyasalların tartımları DENVER INSTRUMENT APX-200 tipi analitik terazide yapılmıştır.

3.1.4. pH metre

Çalışmalarda çözeltilerin pH ayarlamalarını yapmak için Metler Toledo marka pH metre kullanılmıştır.

3.1.5. Saf Su Cihazı

Autostill 8000 X marka saf su cihazı kullanılmıştır.

3.1.6. Mikrodalga Çözme Cihazı

Berghof Speedwave™ MWS-3⁺ marka mikrodalga çözme cihazı kullanılmıştır.

3.1.7. Peristatik Pompa

Watson Marlow SCI 323 marka peristatik pompa kullanılmıştır.

3.2. Çalışmada Kullanılan Reaktif Çözeltiler ve Hazırlanışları

Kullanılan bütün kimyasallar analitik saflıktadır.

3.2.1. Bakır Stok Çözeltisi, 1000 mg/L'lik

3.80 g olarak tartılan $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ yeterli miktarda saf su ile çözülerek toplam hacim 1000 mL olacak şekilde hazırlanmıştır.

3.2.2. Bakır Standart Çözeltileri

Bakır tayini için kullanılan standart çözeltiler 1000 mg/L'lik stok çözeltiliden gerekli seyreltmeler yapılarak ara stok çözelti, ara stok çözeltiliden de uygun konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlanmıştır.

3.2.3. Sodyum Stok Çözeltisi, 20.000 mg/L'lik

Analitik terazide tartılan 5.0842 gr'lık NaCl çözeltisi gerekli miktarda saf su ile çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır.

3.2.4. Potasyum Stok Çözeltisi, 20.000 mg/L'lik

Analitik terazide tartılan 3.814 gr'lık KCl çözeltisi gerekli miktarda saf su ile çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır.

3.2.5. Magnezyum Stok Çözeltisi, 20.000 mg/L'lik

Analitik terazide tartılan 21.099 gr'lık $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi gerekli miktarda saf su ile çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır.

3.3. Etanol-Su (1:1)

% 99.8'lik etanolden 50.1 mL alınarak saf suyla hacmi 100 mL'ye tamamlanmıştır.

3.3.1. Hidroklorik Asit Çözeltisi, 4 M

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

3.3.2. Hidroklorik Asit Çözeltisi, 2M

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

3.3.3. Nitrik Asit Çözeltisi, 2M

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

3.3.4. Hidroklorik Asit, (1, 1.25, 1.5 M)

Daha önce hazırlanmış olan hidroklorik asit çözeltilerinden gerekli seyreltmeler yapılarak 1, 1.25 ve 1.5 M hidroklorik asit çözeltileri hazırlanmıştır.

3.3.5. Nitrik Asit, (1, 1.25, 1.5 M)

Daha önce hazırlanmış olan nitrik asit çözeltilerinden gerekli seyreltmeler yapılarak 1, 1.25 ve 1.5 M nitrik asit çözeltileri hazırlanmıştır.

3.3.6. Hidroklorik Asit, (0.1, 0.25, 0.5 M)

Daha önce hazırlanmış olan hidroklorik asit çözeltilerinden gerekli seyreltmeler yapılarak 0.1, 0.25 ve 0.5 M hidroklorik asit çözeltileri hazırlanmıştır.

3.3.7. Nitrik Asit, (0.1, 0.25, 0.5 M)

Daha önce hazırlanmış olan nitrik asit çözeltilerinden gerekli seyreltmeler yapılarak 0.1, 0.25 ve 0.5 M nitrik asit çözeltileri hazırlanmıştır.

3.3.8. Sodyum Hidroksit Çözeltisi, 1M

Analitik terazide tartılan 10 g sodyum hidroksit yeterli miktarda saf suda çözülerek hacmi 250 mL'ye tamamlanmıştır.

3.3.9. Sodyum Hidroksit Çözeltisi (0.01, 0.1, 0.25, 0.5 M)

Daha önceden hazırlanmış olan 1M sodyum hidroksit çözeltisinden gerekli seyreltmeler yapılarak 0.01, 0.1, 0.25 ve 0.5 M sodyum hidroksit çözeltileri hazırlanmıştır.

3.4. Amberlit XAD-16'nın Hazırlanışı

Ticari reçineler immobilizasyon işlemi gerçekleştirilmeden önce yıkama işlemlerinin yapılması gerekir. Bu yıkama işleminin amacı ortamdan istenmeyen organik ve inorganik bileşenlerin uzaklaştırılmasıdır. Bu işlemler sonunda reçine immobilizasyon işlemine uygun hale getirilmiş olur.

Amberlit XAD-16 reçinesi öncelikle havanda iyice dövülerek toz haline getirilmiştir. Toz haline gelen reçine üzerine 4M HCl ilave edilip 24 saat karıştırmaya bırakılmıştır. Karıştırma işlemi tamamlandıktan sonra asit-reçine karışımı süzülüp reçinenin pH'ı nötr olana kadar saf su ile yıkanmıştır. Daha sonra (1:1) oranında etanol-su karışımı ile yıkanmasının ardından son olarak tekrar saf su ile iyice yıkanmıştır. Yıkanan reçine 105 °C'de kurutulmaya bırakılmıştır. Kurutulan reçine toz haline getirilip kullanıma hazır hale getirilmiştir (Erdogan ve ark. 2004, Dogru ve ark. 2007).

3.5. Biyolojik Materyal

Çalışmamızda Yrd.Doç.Dr. Sadin Özdemir ve arkadaşları tarafından Afyon, Ömer kaplıcasından izole edilen ve tanımlanan termofilik karakterdeki *Anoxybacillus* sp. SO-B1 bakterisi kullanılmıştır.

3.6. Kullanılan Besiyerleri

3.6.1. Besiyeri Maddeleri

Nutrient Broth (NB) ve Agar Merck'den temin edilmiştir.

3.6.2. Sıvı Besiyeri

Anoxybacillus sp. SO-B1; Nutrient Broth tartılıp çeşme suyu ile 1 litreye tamamlanıp, 0.1 M H₂SO₄ ile pH: 7.0'ye ayarlanıp 250 mL'lik erlenmayerlere 100 mL besiyeri eklenip otoklavlanmıştır (Optimum Sıcaklık 55 °C, Optimum pH:7.0).

3.6.3. Katı Besiyeri

Yukarıdaki şekilde hazırlanan sıvı besiyerlerine 18 g/L agar eklenerek hazırlanmıştır.

3.7. Bakteri Üretimi

Anoxybacillus sp. SO-B1 için; yukarıdaki şekilde hazırlanan sıvı besiyerlerine gecelik kültürden 5 mL eklenerek çalkalayıcıda 120 rpm'de 55 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir.

3.8. Kurutulmuş Ölü Bakteri Hücrelerinin Biyosorpsiyon için Hazırlanması

Anoxybacillus sp. SO-B1 uygun besiyerinde ve belli bir inkübasyon süresinde üretilmiştir (24 saat). Daha sonra 7.000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenip üst sıvı uzaklaştırıldıktan sonra pellet 121 °C'de 15 dakika sterilize edilmiş % 0.9'luk NaCl çözeltisi ile yıkanmış ve tekrar santrifüjlenmiştir. Bu işlem iki kez tekrarlanmıştır. Daha sonra pellet 80°C'de bir gece bekletilip kurutulduktan sonra havanda toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilmiş bakteri hücreleri 121 °C'de 20 dakika otoklavlanmıştır. Bu işlemden sonra toz haline getirilmiş bakteri hücrelerinin (bakteri hücrelerinin çoğalıp çoğalmadığını tayin etmek amacıyla) sıvı besiyerlerine ekimi yapılmıştır. Üremenin olmadığı (bakterilerin tamamen öldüğü) durum pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir.

3.9. Mikroorganizmanın Reçineye İmmobilizasyonu

Hazırlanmış olan reçineden 1000 mg, toz haline getirilmiş kuru ve ölü mikroorganizmadan ise 200 mg alınarak bir beher içerisinde karıştırılmıştır. Karışım homojen hale getirildikten sonra üzerine 3 mL kadar saf su ilave edilerek 70 °C'de sürekli olarak karıştırılmaya bırakılmıştır. Bu şekilde suyun buharlaşması sağlanarak karışım hamur kıvamına getirilmiştir. Hamur kıvamına gelen karışımdan buharlaşan su miktarınca saf su ilave edilerek bu işlem tekrarlanmıştır. Mikroorganizmaların yanmaması için 105 °C'de 1 saat etüvde kurutulması sağlanmıştır. Etüvden çıkarılan karışımın üzerine tekrar 3 mL saf su ilave edilmiş ve iyice karıştırılarak tekrar hamur kıvamına gelmesi sağlanmıştır. Daha sonra aynı sıcaklıkta tekrar 1 saat kurutulmaya bırakılmıştır. Yapılan bu işlemlere reçine ile mikroorganizma arasındaki temas maksimum oluncaya kadar devam edilmiştir. (Turker ve Baytak 2004, Baytak ve Turker 2005, Soylak ve ark. 2006, Tuzen ve ark. 2007, Dogru ve ark. 2007).

3.10. Katı Faz Dolgulu Mini Kolonla Eser Element Zenginleştirilmesi

3.10.1. Katı Faz Kolonunun Hazırlanması

Deneylerde kullanılan Varian marka kolon, 1.0 cm × 10.0 cm polietilenden yapılmıştır. Bu kolon içerisine katı faz olarak *Anoxybacillus* sp. SO-B1 ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 reçinesinden 250 mg alınmış ve üzerine 2 mL saf su eklenerek bir beher içerisinde sıcaklığı 70 °C olacak şekilde karıştırılmaya bırakılmıştır. Hamur kıvamına gelen karışıma tekrar aynı miktarda saf su eklenip aynı işleme devam edilmiştir. Biyosorbent olarak kullanılacak olan karışım, karıştırma işlemi sonunda homojen hale gelerek üzerine basınç uygulamadan yavaş yavaş kolona oturtulmaya çalışılmıştır. Kolon dolgu maddesinin tamamen kolona yerleşmesi ve kolonun yıkanması için bol miktarda saf su kolondan geçirilmiştir. Bu işlemlerden sonra kolon kullanıma hazır hale getirilmiştir. Kolon, zenginleştirme amacıyla her kullanımdan sonra bol miktarda saf su ile yıkanmıştır. Kolon, kullanılmadığı zamanlarda kolon dolgu maddesinin kurumaması için her çalışma sonunda kolonda bir miktar saf su bırakılmıştır.

3.10.2. Katı Faz Ekstraksiyonu ile Zenginleştirme Yönteminin Optimizasyonu

Bu çalışmada, doğal örneklerdeki eser düzeyde Cu(II) iyonlarının tayinini ve katı faz ekstraksiyonunu esas alan bir ayırma ve zenginleştirme yöntemi geliştirilmiştir. Bu amaçla biyosorbent olarak *Anoxybacillus* sp. SO-B1 ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 reçinesi kullanılmıştır. Bu kolonda tutunan Cu(II) iyonları 1 M HCl ile elüe edilerek daha küçük bir hacimde zenginleştirilmiştir. Elüasyon çözeltisindeki Cu(II) iyonları alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile tayin edilmiştir.

Geliştirilen zenginleştirme yöntemiyle analit iyonlarının geri kazanma veriminin, pH etkisi, örnek ve elüent akış hızları, elüent türü ve derişimi, örnek hacmi ve yabancı iyonların etkisi gibi analitik değişkenlerle nasıl bir değişim gösterdiği incelenmiştir. Geri kazanma verimi, yöntemin optimizasyonu için incelenen faktörlerin değerlendirilmesinde ölçüt olarak kullanılmıştır. Tayin sonucunda teorik olarak bulunması gereken bakırın derişimi ile FAAS'de analiz sonucu bulunan derişimden geri

kazanma verimi yüzde olarak hesaplanmıştır. Geri kazanma verimi;

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

3.10.2.1. pH Etkisi

Metodun optimizasyon parametreleri arasında en önemli olanlarından bir tanesi pH etkisidir. Çalışmamızda Cu(II) iyonlarının kolonda tutunma verimine pH'ın etkisi incelenmiştir. Bunun için HCl ve NaOH çözeltileri yardımıyla, içerisinde 250 µg Cu(II) iyonlarını bulunduran 50 mL'lik örnek çözeltiler pH 2.0-8.0 aralığında ayarlanarak kolondan 2.5 mL/dk akış hızıyla geçirilmiştir. Tutunan Cu(II) iyonları 5 mL 1 M HCl ile elüe edilip FAAS ile tayin edilmiş ve geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Daha sonra pH'a karşı % geri kazanım verimi grafiğe geçirilmiştir. Geri kazanım veriminin pH ile değişim grafiği Şekil 4.5'de verilmiştir.

3.10.2.2. Örnek Akış Hızının Etkisi

Adsorban üzerinde metal çözeltilerinin alıkonmaları, örnek çözeltinin akış hızına bağlı olarak değişir. Çözelti içerisindeki Cu(II) iyonları *Anoxybacillus* sp. SO-B1 ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 üzerinden geçerken biyosorbent üzerinde ve biyosorbent tanecikleri arasındaki boşluklarda tutunur. Bu amaçla pH'ı 7.0'ye ayarlanmış, içerisinde 250 µg Cu(II) iyonları bulunan 50 mL'lik örnek çözeltiler akış hızı 0.8-5.5 mL/dk aralığında olacak şekilde peristatik pompa yardımıyla kolondan geçirilmiştir. Tutunan Cu(II) iyonları 5 mL 1 M HCl ile elüe edilip FAAS ile tayin edilmiş ve geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Daha sonra örnek çözelti akış hızına karşı % geri kazanım verimi grafiğe geçirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.6'da verilmiştir.

3.10.2.3. Elüent Akış Hızının Etkisi

Cu(II) iyonlarının kolonda kantitatif olarak geri kazanılabilmesi için elüent akış hızının iyi ayarlanması gerekir. Bu amaçla, içerisinde 250 µg Cu(II) bulunduran 50 mL'lik örnek çözeltiler 2.5 mL/dk akış hızı ile kolondan geçirilmiştir. Tutunan Cu(II) iyonları 1M HCl ile akış hızı dakikada 1, 2, 3 mL olacak şekilde elüe edilip geri kazanma verimine elüasyon çözeltisinin akış hızının etkisi incelenmiştir.

3.10.2.4. Elüent Türü, Derişimi ve Hacminin Etkisi

Cu(II) iyonlarının geri kazanma verimine elüent cinsi, derişimi ve hacminin etkisinin incelenmesi için içerisinde 250 µg Cu(II) bulunduran 50 mL'lik örnek çözeltiler pH 7.0'de 2.5 mL/dk akış hızı ile kolondan geçirilmiştir. Tutunan metal iyonları, ayrı ayrı 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 1.25 ve 1.5 M HCl ve HNO₃ çözeltileri kullanılarak elüe edilmiş ve bunların, geri kazanma verimine etkileri araştırılmıştır. Ayrıca elüasyon çözeltilerinin farklı hacimlerinin geri kazanma verimlerine etkileri incelenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2'de verilmiştir.

3.10.2.5. Biyosorpsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi

XAD-16 reçinesi üzerine immobilize edilmiş olan ölü *Anoxybacillus* sp. SO-B1 bakterisi ile hazırlanan biyosorbent tarafından adsorplanan Cu(II) miktarlarını, yani biyosorbentin kapasitesini belirlemek amacıyla ayrı ayrı 250, 500, 1000, 1500 µg Cu(II) iyonlarını içeren 50 mL'lik örnek çözeltiler daha önce belirlenen optimum koşullara ayarlandıktan sonra kolondan geçirilmiştir. Kolonda tutunan Cu(II) iyonları 5 mL 1 M HCl ile elüe edilip FAAS ile tayin edilmiş ve biyosorpsiyon kapasiteleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'de verilmiştir (Dogru ve ark. 2007).

3.10.2.6. Örnek Çözelti Hacminin (Hacime Bağlı Zenginleştirme) Etkisi

Örnek çözelti hacmi, yüksek zenginleştirme faktörü elde edebilmek için önemli bir değişkendir. Geliştirilen yöntemin doğal su örneklerine uygulanması açısından ve doğal su örneklerinde eser düzeyde metal iyonları olmaları nedeniyle büyük hacimlerle çalışma olasılığı vardır. Daha önce optimize edilen şartlarda 50, 100, 250, 500 ve 1000 mL hacminde örnek çözeltiler hazırlanıp zenginleştirme işlemi uygulanarak örnek çözelti hacminin, Cu(II) iyonlarının geri kazanma verimine etkisi incelenmiştir. Elde edilen veriler Çizelge 4.5 ve Şekil 4.7'de verilmiştir.

3.10.2.7. Zenginleştirme Faktörü (Konsantrasyona Bağlı Zenginleştirme)

Ayrı ayrı 500 mL, 25 µg/L ve 50 µg/L konsantrasyonlarında Cu(II) çözeltileri pH 7.0'ye ayarlandıktan sonra 2.5 mL/dk akış hızı ile kolondan geçirilmiştir. Adsorban üzerinde tutunan Cu(II) iyonları 5 mL 1 M HCl ile elüe edilmiştir. Geri alma çözeltilerindeki metaller FAAS ile tayin edilmiş olup sonuçlar Çizelge 4.6'da verilmektedir.

3.10.2.8. *Anoxybacillus* sp. SO-B1 ile Modifiye Edilmiş Amberlit XAD-16'nın Biyosorbent Olarak Yeniden Kullanılabilirliği

Yapılan çalışmada biyosorbentin verimlilik süresini (uzun süre kararlılığını) belirlemek amacıyla analitin geri kazanma verimindeki değişimler izlenmiştir. İçerisinde 250 µg Cu(II) iyonlarını bulunduran 50 mL'lik örnek çözeltiler hazırlanarak optimum şartlara göre ayarlanıp kolondan geçirilmiştir. Elüasyonları yapılan çözeltilerin FAAS ile tayinleri sonucu elde edilen veriler Şekil 4.8'de verilmiştir.

3.10.2.9. Yabancı İyonların Etkisi

Yöntemin gerçek örneklerle uygulanması aşamasında ortamda incelediğimiz eser elementlerin dışında başka iyonlarda bulunabilir. Alevli AAS ile tayinlerde girişim yaptığı düşünülen ve ortamda bulunabilecek doğal su örneklerinin temel bileşenlerinden olan bazı katyon (Na^+ , K^+ , Mg^{2+}) ve anyonların (Cl^- , NO_3^-) geliştirilen katı faz ekstraksiyonu yöntemiyle zenginleştirilen, analit iyonlarının geri kazanım değerlerine olan etkisi araştırılmıştır.

İçerisinde 250 µg Cu(II) iyonlarını bulunduran çözeltilere ayrı ayrı Na^+ , NaCl; K^+ , KCl; Mg^{2+} , $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ tuzlarının farklı derişimleri eklenip hacimleri 50 mL'ye tamamlanmıştır. Bu çözeltiler optimum koşullarına ayarlanarak kolondan geçirilerek elüe edilen Cu(II) iyonları alevli AAS ile tayin edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.7'de verilmiştir.

3.10.2.10. Yöntemin Kesinliği

Geliştirilen yöntemin kesinliği, 250 µg Cu(II) iyonlarını içeren 50 mL'lik örnek çözeltilerde araştırılmıştır. Çözeltiler daha önce belirlenen optimum koşullara ayarlanarak kolondan geçirilmiştir. Biyosorbent üzerinde tutunan Cu(II) iyonları, 1 M 5 mL HCl ile elüe edilerek FAAS ile tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.8'de verilmiştir.

3.10.2.11 Yöntemin Gerçek Numunelere Uygulanması

Geliştirilen yöntem Dicle Üniversitesi köprüsünden alınan Dicle Nehir suyu, Elazığ Maden Çayı, Hazar Gölü ve musluk suyu örneklerine uygulanmıştır. Alınan su numunelerinin saklanması amacıyla polietilenden imal edilmiş kaplar tercih edilmiştir.

Bu kaplar, önce deterjanlı su ile birkaç kez yıkanıp saf sudan geçirilmiştir. Böylece numune kapları numune almaya hazır hale getirilmiştir. Laboratuara getirilen Dicle Nehir suyu, Elazığ Maden Çayı suyu ve Hazar Gölü suyu mavi bandlı süzgeç kâğıdı kullanılarak süzülmüştür. 500 mL alınan su örnekleri 1 gün + 4 °C soğutucuda bekletilmiştir. Musluk suyu örneği ise laboratuarda musluklar bir miktar akıtıldıktan sonra direk olarak kullanılmıştır. 500 mL alınan su örnekleri pH'ları 7.0'ye ayarlanarak 2.5 mL/dk akış hızıyla kolondan geçirilmiştir. Kolonda tutunan Cu(II) iyonları 1 M 5 mL HCl ile elüe edilip FAAS ile tayin edilmiştir. Analiz sonuçları Çizelge 4.9'da verilmiştir.

3.10.2.12. Standart Referans Madde (NCS-DC 73350) Analizi

XAD-16 reçinesine immobilize edilmiş *Anoxybacillus* sp. SO-B1 bakterisi dolgulu kolonu ile geliştirilen ayırma-zenginleştirme yönteminin doğruluğunu test etmek amacıyla yöntem standart referans maddeye (NCS-DC 73350) uygulanmıştır. Bunun için standart referans maddeden 0.25 g alınıp üzerine 6 mL HNO₃ ve 2 mL H₂O₂ ilave edilip mikrodalgada çözünürleştirme işlemi yapılmıştır. Çözünürleştirme sonunda mavi bant süzgeç kağıdında süzme işlemi yapıp pH'ı 7.0'ye ayarlanarak hacmi 50 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti 2.5 mL/dk akış hızı ile kolondan geçirilerek 1 M 5 mL HCl ile elüe edilip FAAS ile tayin edilmiştir. Analiz sonucu Çizelge 4.10'da verilmiştir.

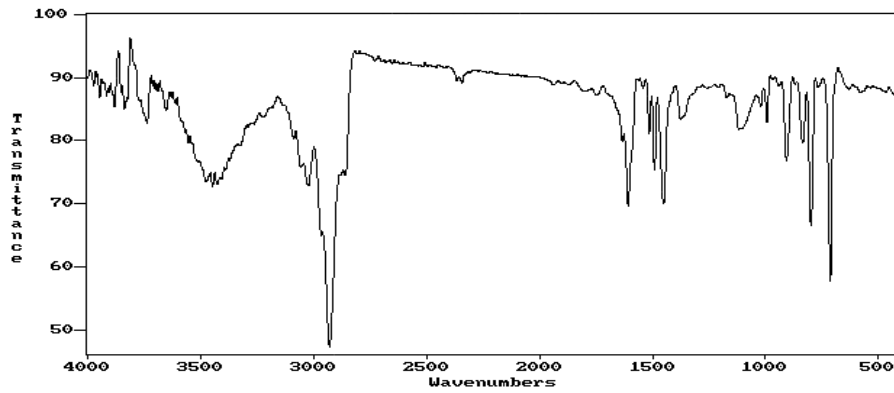
3.10.2.13. Gözlenebilme Sınırının Belirlenmesi

Cu(II) iyonlarını içermeyen 50 mL'lik şahit çözeltiler (N=10), pH 7.0'ye ayarlandıktan sonra 2.5 mL/dk akış hızında 0.25 g adsorban içeren kolondan geçirilmiştir. Daha sonra 5 mL 1 M HCl elüasyon çözeltisi ile geri alınmıştır. Geri alınan çözeltilerin tayinleri FAAS ile yapılmıştır. Şahit çözeltilerden elde edilen absorbans değerlerinin standart sapmasının üç katına karşılık gelen derişim hesaplanmıştır. Şahit değerlerin standart sapmasının üç katını esas alan gözlenebilme sınırı değeri zenginleştirme faktörüne bölünerek hesaplanmıştır. Cu(II) için zenginleştirme faktörü 125 olarak hesaplanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

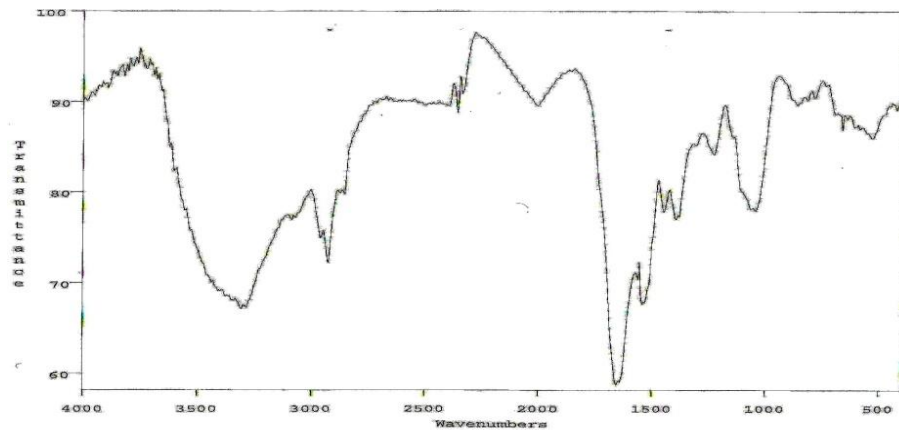
4.1. FTIR Spektrumları

IR spektrumunun alınması sadece yapıda fonksiyonel grupların bulunup bulunmadığını gösterir. Bu nedenle saf XAD-16 reçinesinin, saf *Anoxybacillus* sp. SO-B1 bakterisinin, *Anoxybacillus* ile modifiye edilmiş XAD-16 reçinesinin ve biyosorbe edilmiş modifiye reçinenin IR spektrumları çekilmiştir. Elde edilen spektrumlar aşağıdaki şekillerde sırasıyla verilmiştir.



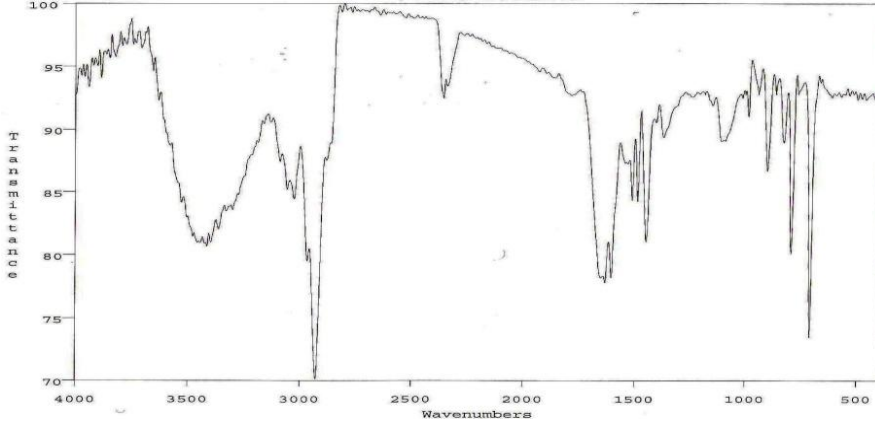
Şekil 4.1 Amberlit XAD-16 IR spektrumu

IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(\text{H}_2\text{O})$: 3435, $\nu(\text{C-H})_{\text{aromatik gerilme}}$: 3056, 3018, $\nu(\text{C-H})_{\text{alifatik gerilme}}$: 2928, $\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{aromatik gerilme}}$: 1452, $\nu(\text{C-H})_{\text{alifatik düzlem içi eğilme}}$: 1375



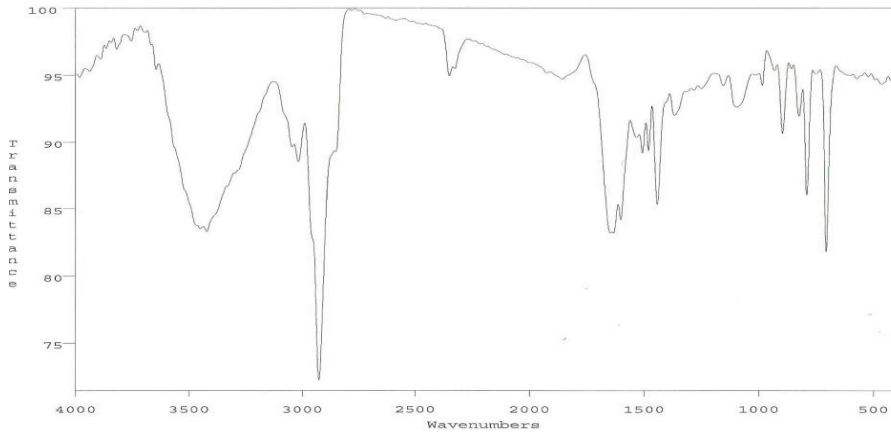
Şekil 4.2. *Anoxybacillus* sp. SO-B1 IR spektrumu

IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(\text{H}_2\text{O})$: 3306, $\nu(\text{C-H})_{\text{alifatik gerilme}}$: 2925, $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{gerilme}}$: 1655, $\nu(\text{N-H})_{\text{gerilme}}$: 1535, $\nu(\text{C-N})_{\text{gerilme}}$: 1049



Şekil 4.3 *Anoxybacillus* sp. SO-B1 ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 reçinesi

IR (KBr, cm⁻¹): $\nu(\text{H}_2\text{O})$: 3423, $\nu(\text{C-H})_{\text{aromatik}}$ gerilme: 3054, 3022 $\nu(\text{C-H})_{\text{alifatik}}$ gerilme: 2926, $\nu(\text{C=O})_{\text{karbonil}}$: 1632, $\nu(\text{N-H})_{\text{gerilme}}$: 1605, $\nu(\text{C=C})_{\text{aromatik}}$ gerilme: 1448, $\nu(\text{C-N})$: 1112, $\nu(\text{C-H})_{\text{aromatik}}$ düzlem içi eğilme: 904, $\nu(\text{C-H})_{\text{aromatik}}$ düzlem dışı eğilme: 796, 710



Şekil 4.4. Biyosorbe edilmiş modifiye reçine

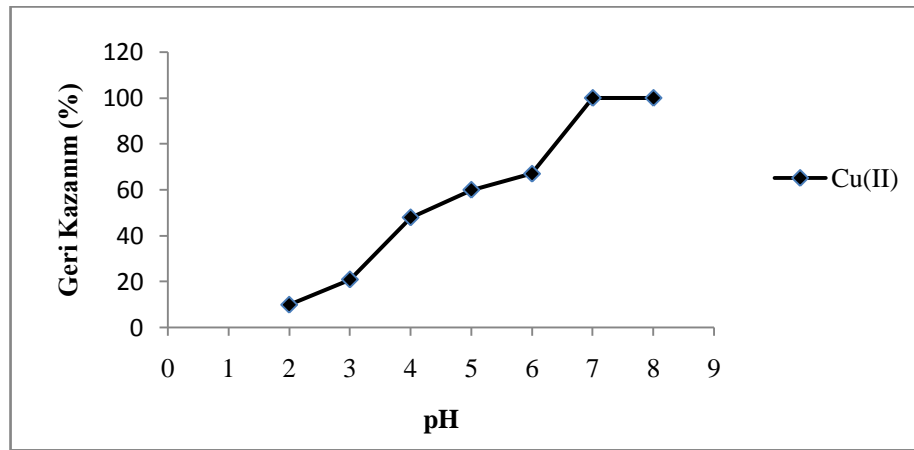
IR (KBr, cm⁻¹): $\nu(\text{H}_2\text{O})$: 3424, $\nu(\text{C-H})_{\text{aromatik}}$ gerilme: 3050, 3022 $\nu(\text{C-H})_{\text{alifatik}}$ gerilme: 2926, $\nu(\text{C=O})_{\text{karbonil}}$ gerilme: 1651, $\nu(\text{N-H})_{\text{gerilme}}$: 1605, $\nu(\text{C=C})_{\text{aromatik}}$ gerilme: 1448, $\nu(\text{C-N})_{\text{gerilme}}$: 1102, $\nu(\text{C-H})_{\text{aromatik}}$ düzlem içi eğilme: 903 $\nu(\text{C-H})_{\text{aromatik}}$ düzlem dışı eğilme: 795, 710

4.2. Katı Faz Ekstraksiyonu Yönteminin Uygulanmasında Optimum Şartların Belirlenmesi

Anoxybacillus sp. SO-B1 bakterisi ile modifiye edilen Amberlit XAD-16 reçinesinden elde edilen kolon kullanılarak, Cu(II) iyonu için optimum şartların belirlenmesinde bir dizi çalışma yapılmıştır. Çalışmaların sonuçları aşağıdaki şekil ve çizelgelerle verilmektedir.

4.2.1. Optimum pH

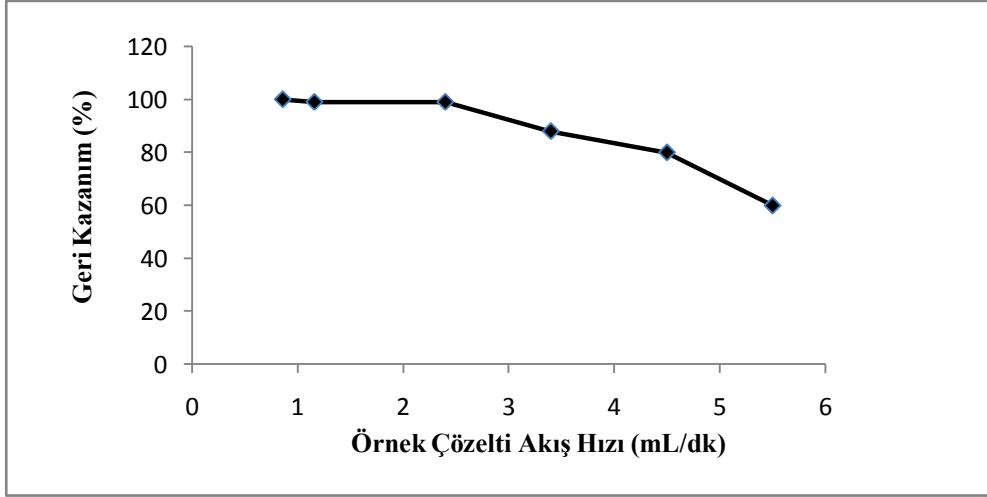
Şekil 4.5’de görüldüğü gibi pH 2.0-8.0 aralığında deneysel çalışmalar yapılmıştır. Sonuçlardan pH 7.0 ve 8.0’de Cu(II)’nin kantitatif olarak geri kazanıldığı görülmüştür. Bu verilerden yararlanılarak zenginleştirme çalışmamızda optimum geri kazanma veriminin en iyi olduğu en düşük pH değeri olan pH 7.0 seçilmiştir. Bu sonuçlar göz önünde bulundurularak bundan sonra yapılacak çalışmalara pH 7.0’de devam edilmesi uygun görülmüştür (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Cu(II) iyonlarının % geri kazanımına pH’ın etkisi

4.2.2. Optimum Örnek Akış Hızı

Örnek akış hızının geri kazanma değerlerine etkisini incelemek amacıyla 50 mL hacmindeki örnek çözeltiler akış hızı 0.8-5.5 mL/dk aralığında olacak şekilde peristatik pompa yardımıyla kolondan geçirilmiştir. Elde edilen sonuçlardan yararlanarak zenginleştirme çalışmamızda geri kazanma veriminin en iyi olduğu en yüksek akış hızı değeri olan 2.5 mL/dk seçilmiştir. Sonuçlar Şekil 4.6’da verilmiştir.



Şekil 4.6. Cu(II) iyonlarının % geri kazanımına örnek akış hızının etkisi

4.2.3. Optimum Elüent Akış Hızı

İçerisinde 250 µg Cu(II) iyonlarını bulunduran pH'ı 7.0'ye ayarlanmış 50 mL'lik örnek çözeltiler kolondan geçirilmiş ve 5 mL 1M HCl ile, akış hızı dakikada 1, 2, 3 mL olacak şekilde elüe edilmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda daha sonraki çalışmalarda 1 mL/dk'lık akış hızıyla devam edilmesi uygun görülmüştür.

4.2.4. Optimum Elüent Türü, Derişimi ve Hacmi

Biyosorbent dolgulu kolonda tutunan Cu(II) iyonlarının kantitatif olarak geri kazanılması için uygun bir elüe edicinin kullanılması gerekir. Bu amaçla pH'sı 7.0 olan 50 mL hacmindeki örnek çözeltiler kolondan geçirilmiştir. Elüasyon işlemi için elüent türü derişimi ve hacmi Çizelge 4.1 ve 4.2'de verilmiştir. Elüasyon işleminde 0.1 M, 0.25 M, 0.5 M HCl ve 0.1 M, 0.25 M HNO₃ ile geri kazanım değerlerinin kantitatif olmadığı gözlenirken çalışılan diğer konsantrasyon değerlerinde kantitatif sonuçlar elde edilmiştir. Cu(II) iyonlarının pH 7.0'de geri kazanma verimine elüent türü, derişimi ve hacminin etkisinin incelenmesi için yapılan çalışmanın sonuçlarına göre, düşük hacim ve düşük konsantrasyonda, maksimum geri kazanma veriminin sağlandığı asit çözeltisi 5 mL 1 M HCl olarak belirlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.1 ve 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Cu(II) iyonlarının 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 1.25 ve 1.5 M HCl ile 2, 5 ve 10 mL hacimler kullanıldığı zaman elde edilen geri kazanım verimleri

Elüasyon Çözelti Türü	Elüasyon Çözelti Derişimi (mol/L)	Elüasyon Çözelti Hacmi (mL)	Cu(II) Geri Kazanım Verimi (%)
HCl	0.1	2	70.10
		5	72.64
		10	75.21
	0.25	2	75.23
		5	80.29
		10	83.32
	0.5	2	78.19
		5	83.41
		10	86.70
	1.0	2	92.65
		5	100.0
		10	100.0
	1.25	2	94.70
		5	100.25
		10	101.42
	1.5	2	97.55
		5	100.56
		10	102.85

4.ARAŞTIRMA BULGULARI

Çizelge 4.2 Cu(II) iyonlarının 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 1.25 ve 1.5 M HNO₃ ile 2, 5 ve 10 mL hacimler kullanıldığı zaman elde edilen geri kazanım verimleri

Elüasyon Çözelti Türü	Elüasyon Çözelti Derişimi (mol/L)	Elüasyon Çözelti Hacmi (mL)	Cu(II) Geri Kazanım Verimi (%)
HNO ₃	0.1	2	42.15
		5	44.98
		10	51.24
	0.25	2	63.82
		5	75.64
		10	88.36
	0.5	2	80.46
		5	90.65
		10	97.40
	1.0	2	90.78
		5	97.63
		10	100.30
	1.25	2	97.68
		5	99.66
		10	100.05
	1.5	2	98.43
		5	100.35
		10	100.50

4.2.5. Biyosorpsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi

250, 500, 1000, 1500 μg Cu(II) iyonlarını bulunduran pH'ı 7.0 olan 50 mL'lik örnek çözeltiler kolondan geçirilip 5 mL 1 M HCl ile elüe edilmiştir. 0.25 g adsorban içerisinde bulunan bakteri miktarı 0.041 g olup, bakterinin adsorpladığı maksimum Cu(II) miktarı 18492 $\mu\text{g}_{\text{Cu(II)}} / \text{g}_{\text{bakteri}}$, reçinenin adsorpladığı maksimum Cu(II) miktarı ise 3077 μg olarak belirlenmiştir. FAAS ile tayin sonucunda elde edilen veriler Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Bakterinin biyosorpsiyon kapasitesi tayini

$C_{\text{başlangıç}}$ (mg/L)	Biyosorpsiyon Verimi (%)	Bağlanma Kapasitesi ($\mu\text{g}_{\text{Cu(II)}}/\text{g}_{\text{bakteri}}$)
5	100.0	6010
10	87.22	10484
20	71.26	17131
30	51.28	18492

Çizelge 4.4. Reçinenin biyosorpsiyon kapasitesi tayini

$C_{\text{başlangıç}}$ (mg/L)	Biyosorpsiyon Verimi (%)	Bağlanma Kapasitesi ($\mu\text{g}_{\text{Cu(II)}}/\text{g}_{\text{reçine}}$)
5	100.0	1000.0
10	87.22	1744.40
20	71.26	2850.60
30	51.28	3077.0

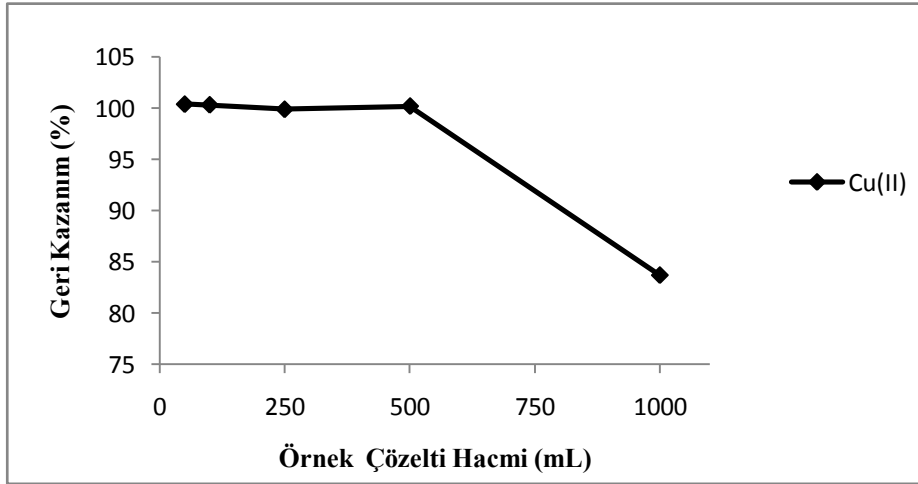
4.2.6. Örnek Çözelti Hacmi (Hacime Bağlı Zenginleştirme)

Optimize edilen şartlarda 50, 100, 250, 500, 1000 mL'lik hacimlerde örnek çözeltiler hazırlanıp kolondan geçirilmiş ve 5 mL 1 M HCl ile elüasyonu yapıldıktan sonra FAAS ile tayin edilmiştir. Buna göre Cu(II) iyonlarının geri kazanma verimine örnek çözelti hacminin etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, örnek çözelti hacmi 500 mL olana kadar Cu(II) iyonları kantitatif olarak geri alınabilmiş 500 mL'den

daha yüksek hacimlerde ise geri alma yüzdelерinin düştüğü gözlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.5 ve Şekil 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Örnek çözelti hacminin geri kazanım verimine etkisi

$C_{\text{başlangıç}}$ ($\mu\text{g/mL}$)	Örnek Çözelti Hacmi	Cu(II) Geri Kazanım Verimi (%)
5	50	100.48
2.5	100	100.26
1	250	99.93
0.5	500	100.15
0.25	1000	83.60



Şekil 4.7. Cu(II) iyonlarının geri kazanılmasında örnek çözelti hacminin etkisi

4.2.7. Zenginleştirme Faktörü (Konsantrasyona Bağlı Zenginleştirme)

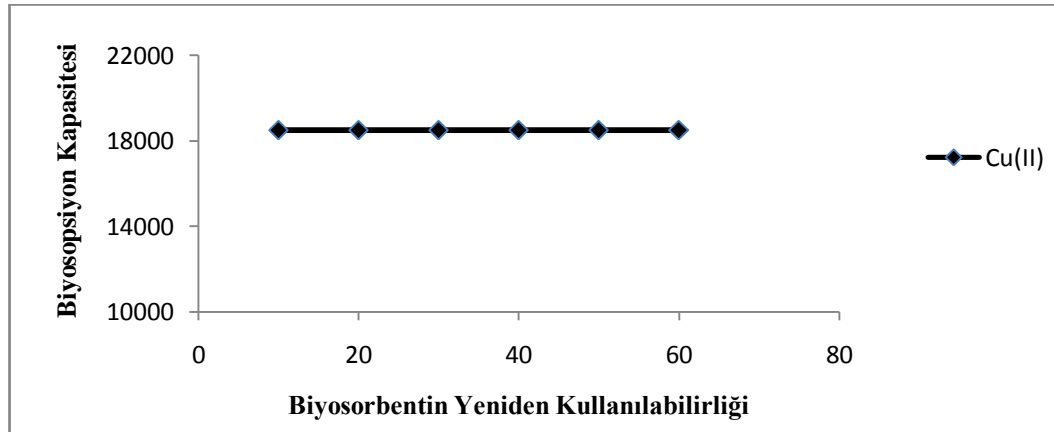
Doğal su örnekleri gibi gerçek örnekler eser miktarda metal iyonları içerirler. Bundan dolayı bu eser miktardaki metal iyonlarının yüksek zenginleştirme faktörlerine ulaşabilmek adına ayrı ayrı 25 ve 50 $\mu\text{g/L}$ 500 mL’lik çözeltiler kolondan geçirilmiş ve elüasyonları yapılmıştır. FAAS ile tayin sonucu belirlenen zenginleştirme faktörleri Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Cu(II) iyonlarının zenginleştirme faktörleri

Örnek Çözelti Hacmi (mL)	C başlangıç (µg/L)	Zenginleştirme Faktörü	Cu(II) Geri Kazanım Verimi (%)
500	25	125	101.05
500	50	83	102.88

4.2.8. *Anoxybacillus* sp. SO-B1 ile Modifiye Edilmiş Amberlit XAD-16'nın Biyosorbent Olarak Yeniden Kullanılabilirliği

Zenginleştirme çalışmalarında elde edilen sonuçlara göre, biyokütlenin kararlılığı, tekrar kullanılabilirliği biyosorpsiyon kapasitesi düşmeden analitlerin geri kazanımdaki değişiklikleri ele alınarak değerlendirilmiştir. Buna göre, biyosorbent yaklaşık 60 kez kullanılmış ve geri kazanım değerlerinde bir değişiklik gözlenmemiştir.



Şekil 4.8. Cu(II) iyonlarının geri kazanılması çalışmalarında biyosorbentin yeniden kullanılabilirliği

4.2.9. Yabancı İyonların Etkisi

Girişim yaptığı düşünülen K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Cl^- , NO_3^- iyonları örnek çözeltilere eklenmiş ve pH'sı 7.0'ye ayarlandıktan sonra kolondan geçirilmiştir. Elüe edilen Cu(II) iyonları alevli AAS ile tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre Mg^{2+} ve NO_3^- iyonlarının artan derişimleriyle beraber geri kazanma değerlerinde artış gözlenirken Na^+ , K^+ , Cl^- iyonlarının ise artan derişimle beraber geri kazanma değerlerinde düşüş olduğu gözlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Cu(II) iyonlarının geri kazanılmasında yabancı iyonların etkisi

İyon	İlave Edilen (mg/L)	Cu(II) Geri Kazanım Verimi (%)
Na ⁺	500	88.14
	1000	71.32
	5000	68.63
	10.000	63.72
K ⁺	500	73.52
	1000	72.08
	5000	61.69
	10.000	46.96
Mg ²⁺	500	80.28
	1000	82.90
	5000	84.02
	10.000	86.18
Cl ⁻	770	88.14
	1540	71.32
	7703	68.63
	15.407	63.72
NO ₃ ⁻	2550	80.28
	5100	82.90
	25.500	84.02
	51.100	86.18

4.2.10. Yöntemin Kesinliği

Optimum zenginleştirme şartları belirlendikten sonra, geliştirilen yöntemin kesinliği incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.8’de verilmektedir.

Çizelge 4.8. Optimum koşullardaki Cu(II) iyonlarının geri kazanım veriminin tekrarlanabilirliği^a

Element	(%) $R \pm \frac{t.s}{\sqrt{N}}$	% Bağıl Standart Sapma
Cu(II)	100,88 ± 1.57	1.25

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

4.2.11. Yöntemin Gerçek Numunelere Uygulanması

Yöntem Dicle Nehri, Elazığ Maden Çayı, Hazar gölü ve musluk suyu örneklerine uygulanmış olup elde edilen sonuçlar Çizelge 4.9’da verilmektedir.

Çizelge 4.9. Çeşitli doğal su örneklerinde Cu(II) iyonlarının tayini

Su örneği	Bulunan değer ^a (µg/L)	% BSS ^b
Dicle Nehri	21.56 ± 0.88	3.25
Maden Çayı	37.04 ± 1.25	2.72
Hazar Gölü	25.68 ± 0.92	2.87
Musluk Suyu	7.76 ± 0.49	5.14

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

4.2.12. Standart Referans Madde (NCS-DC 73350) Analizi

Standart referans maddeye (NCS-DC 73350) çözünürleştirme işlemi yapıldıktan sonra belirlenen optimum zenginleştirme şartlarına ayarlanarak kolondan geçirilmiş ve FAAS ile tayini yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.10’da verilmiştir.

4.ARAŞTIRMA BULGULARI

Çizelge 4.10. Standart referans madde (NCS-DC 73350)'de Cu(II) iyonlarının tayini

Element	Sertifikalı Değer (µg/g)	Bulunan Değer^a (µg/g)	%Bağıl Hata	%BSS^b
Cu(II)	9.30	8.70 ± 0.44	-6.45	4.05

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

4.2.13. Gözlenebilme Sınırının Belirlenmesi

Tayin edilen Cu(II) için gözlenebilme sınır değeri hesaplanarak bulunan değer elde edilen zenginleştirme katsayısına bölünmüŐtür. Buna göre geliştirilen yöntemde, Cu(II) iyonun gözlenebilme sınırı 0.16 µg/L olarak bulunmuştur.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada kolon tekniğine dayalı katı faz ekstraksiyon yöntemi kullanılarak, bakır elementi için en uygun zenginleştirme yöntemleri geliştirilmiştir. Bunun için Amberlit XAD-16 reçinesine modifiye edilen ölü *Anoxybacillus* sp. SO-B1 bakterisi ile hazırlanan biyosorbentin bakır elementini adsorplama ve geri kazanma özellikleri araştırılmıştır. Ayrıca Amberlit XAD-16 reçinesi, *Anoxybacillus* sp. SO-B1 bakterisi, modifiye Amberlit XAD-16 ve biyosorbe edilmiş modifiye reçinenin FT-IR spektrumları ile karakterizasyonları yapılmıştır. Çalışmada, Cu(II) iyonlarının tayin öncesi zenginleştirilmesi ve yöntemin optimizasyonu için bazı analitik parametreler incelenmiştir. Çözeltide bulunan Cu(II) iyonları alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile kantitatif olarak tayin edilmiştir.

Geliştirilen bu zenginleştirme yönteminde incelenen analitik parametreler; örnek çözelti pH'sı, örnek ve elüent akış hızı, elüent türü, derişimi ve hacmi, zenginleştirme faktörü, biyosorpsiyon kapasitesi, örnek çözelti hacmi, biyosorbentin kullanılabilirliği, yabancı iyon (matriks) etkileridir. Geri kazanma (% R) değeri yöntemin optimizasyonu için incelenen faktörlerin değerlendirilmesinde ölçü olarak kullanılmıştır.

Bölüm 4.1'de ayrı ayrı reçine, bakteri, modifiye edilmiş reçine ve biyosorbe olmuş modifiye reçinenin IR spektrumları verilmiştir. Bakterideki 3306 cm^{-1} , modifiye Amberlit XAD-16 reçinesindeki 3423 cm^{-1} ve biyosorbe edilmiş modifiye reçinedeki 3424 cm^{-1} 'de görülen geniş ve orta şiddetteki pikler OH (H_2O)'dan kaynaklı olup amitten gelen N-H piki ile üst üste çakışmıştır. Bundan dolayı N-H soğurması orta şiddette bir veya iki keskin pik görülmesi gerekirken OH soğurmasının geniş bandından dolayı spektrumda görülememektedir.

Anoxybacillus sp. SO-B1 bakterisi ile modifiye olan Amberlit XAD-16 reçinesinin IR spektrumu (Şekil 4.3) incelendiğinde, bakteride var olan 1655 cm^{-1} 'deki karbonil C=O (1. amit bandı) piki 1632 cm^{-1} 'e, 1535 cm^{-1} 'deki N-H (2. amit bandı) 1605 cm^{-1} 'e ve yine bakteride var olan 1049 cm^{-1} 'deki C-N (3. amit bandı) piki 1112 cm^{-1} 'e kaymış olup pik şiddetlerinde azalma olmuştur bu da bakterinin reçineye, C=O, N-H ve C-N grupları üzerinden bağlandığını göstermektedir.

Biyosorbe olmuş modifiye reçinenin (içerisinde 250 µg Cu(II) iyonlarının bulunduğu çözelti pH 7.0'ye ayarlanarak kolondan geçirilmesi ile elde edilen) IR spektrumuna (Şekil 4.4) bakacak olursak 1632 cm⁻¹ de var olan karbonil C=O (1. amit bandı) piki 1651 cm⁻¹'e, 1112 cm⁻¹'de ki C-N (3. amit bandı) piki 1102 cm⁻¹'e kaymış olup piklerin şiddetlerinde azalma olmuştur. Bu da Cu(II) iyonlarının C=O ve C-N üzerinden bağlandığını göstermektedir.

FT-IR spektrumlarımızda 3086-3022, 2926, 1513-1442 cm⁻¹'de ortaya çıkan pikler sırasıyla (C-H)_{aromatik}, (C-H)_{alifatik} ve (C=C)_{aromatik} gerilme titreşimlerine aittir. Bu bağlar modifiye reçinenin oluşumunda, birinci dereceden etkilenmedikleri için, reçine, bakteri ve modifiye reçine bandları yaklaşık aynı bölgede çıkmakta veya merkez atomuna bağlı olarak çok az kayma görülmektedir. Aromatik ya da alifatik olsun C-H grupları bakteri reçine etkileşimine katılmadıklarından çok fazla bir kayma beklenmez.

Genel olarak, tayin elementinin adsorplanmasını etkileyen en önemli parametrelerden bir tanesi pH'dır. Bu nedenle, maksimum adsorpsiyon için optimum pH aralığını belirlemek amacıyla pH=2.0-8.0 aralığında deneyler yapılmış ve bulunan sonuçlar Şekil 4.5'de gösterilmiştir. Verilen şekilden de görüldüğü gibi örnek çözeltinin pH değeri arttıkça kolonda tutunma artmıştır fakat kantitatif tutunma ve geri kazanım pH 7.0 ve 8.0 değerlerinde elde edilmiştir. Düşük pH'larda analit ve hidronyum iyonları arasında rekabet meydana gelmektedir. Düşük pH değerlerinde hücre yüzeyi pozitif yüklü olmaktadır. Bu da metal iyonlarıyla hücre duvarı üzerindeki fonksiyonel gruplar arasındaki etkileşimi azaltır ve metal iyonlarının bağlandığı uçlar protonlar tarafından doldurulmaktadır (Robles ve Aller 1994, Lale ve ark. 2005). Bu nedenle düşük pH değerlerinde Cu(II) iyonları biyosorbent tarafından tutulamamıştır. Bunun tam tersine daha yüksek pH değerlerinde hücre yüzeyi negatif yüklü olur ve metal iyonlarıyla hücre duvarı üzerindeki fonksiyonel gruplar arasındaki etkileşim artar ve pH 7.0 olduğunda ise maximuma kadar ulaşır (Baytak 2003). İdeal değerlerden daha yüksek pH değerlerinde ise hücrenin aktif yerlerine, adsorpsiyon metal iyonları ve hidroksil kompleksleri arasındaki rekabetten dolayı tutunma tekrar azalmaktadır (Erdogan ve ark. 2007, Uluözlü 2010). Çalışmamızda optimum pH 7.0 olarak belirlenmiş olup yapılan sonraki çalışmalarda pH 7.0'de devam edilmiştir.

Kolonda tutunan elementlerin kantitatif olarak geri kazanılması için uygun bir elüe edicinin kullanılması gerekir. Biyosorbentin kısa sürede bozulmasını önlemek için elüasyon çözeltisi olarak seçilen asidin konsantrasyonunun ve hacminin mümkün olduğu kadar düşük olması gerekmektedir. Dolayısıyla kullanacağımız elüasyon çözeltisini seçerken olabildiğince düşük hacim ve düşük konsantrasyonda, maksimum geri kazanma veriminin sağlandığı asit çözeltisi seçilmelidir. Bu nedenle literatürlerde yaygınca kullanılan HCl ve HNO₃ ile çalışma yapılmıştır (Bag ve ark. 1998, Bag ve ark. 2000, Soylak ve ark. 2006, Dogru ve ark. 2007, Tuzen ve ark. 2008). Optimum elüent türü, derişimi ve hacminin belirlenmesi için örnek çözeltiler pH 7.0'ye ayarlandıktan sonra kolondan geçirilmiştir. Elüasyon işlemini gerçekleştirmek amacıyla elüe edici olarak 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 1.25 ve 1.5 M derişimlerindeki HCl ve HNO₃ çözeltileri ile çalışılmıştır. Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2 incelendiğinde elde edilen sonuçlar doğrultusunda hem biyosorbentin bozulmasını önlemek hem de yüksek zenginleştirme faktörü elde etmek için kullanacağımız elüent derişimi ve hacminin mümkün olan en düşük değeri seçilmiştir. Buna göre optimum elüent türü, derişimi ve hacmi 5 mL 1M HCl olarak belirlenmiştir.

Geliştirilen ayırma ve zenginleştirme yönteminin verimliliğinde geçen sürenin kısa olması önemlidir. Yöntemin uygulanmasında en zaman alıcı kısım örneğin kolondan geçme ve elüe edilme zamanıdır. Bu sürelerin uzunluğu yöntemin performansı ile doğrudan ilgilidir (Venkatesh ve Singh 2005, Dogru ve ark. 2007). Bu nedenle metal iyonlarının biyosorbent üzerinde tutunmaları örnek çözeltinin akış hızına bağlı olarak değişebileceğinden örnek çözeltinin akış hızının (Cu(II) iyonlarının) biyosorbent üzerinde tutunmalarına etkisi incelenmiştir. Optimum şartlarda hazırlanan örnek çözeltiler 0.8-5.5 mL/dk akış hızlarında geçirilmiştir. Sonuçlar Şekil 4.6'da verilmiştir. Şekil 4.6'da da görüleceği gibi akış hızı 0.8-2.5 mL/dk aralığında olduğu zaman Cu(II) iyonları kolonda kantitatif olarak tutulup ve geri kazanılırken 2.5 mL/dk'dan daha yüksek akış hızlarında ise Cu(II) iyonlarının biyosorbent üzerinde tutunmalarında ve geri kazanma yüzdelerinde düşüş gözlenmiştir. Bu nedenle akış hızı Cu(II) iyonlarının tutunmasını sağlayacak kadar yavaş ve aynı zamanda aşırı süre kaybından kaçınacak kadar hızlı olmalıdır. Çalışmamızda geri kazanma veriminin kantitatif olduğu optimum akış hızı 2.5 mL/dk olarak belirlenmiştir.

Zenginleştirme çalışmasında elüent çözeltisinin, kolona adsorplanmış olan analitleri mümkün olan en kısa sürede ve yüksek geri kazanım değerlerinde alabilmesi istenir. Elüentin en uygun akış hızının belirlenmesi için akış hızı 1-3 mL/dk aralığında çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre elüasyon çözelti hacminin düşük olması nedeniyle analiz süresini fazla etkilemeyeceği, çalışmanın kontrolünün sağlanabilmesi ve olabildiğince yüksek verim elde etmek için 1 mL/dk akış hızı optimum elüent akış hızı olarak belirlenmiştir (Bağ ve ark. 1998, Bağ ve ark. 2000).

XAD-16 reçinesi üzerine modifiye edilmiş ölü *Anoxybacillus* sp. SO-B1 ile hazırlanan biyosorbent tarafından adsorplanan metal miktarları, yani sorbent kapasitesi belirlenmesi amacıyla içerisinde 250, 500, 1000, 1500 µg Cu(II) iyonlarını bulduran çözeltiler optimum koşullarına ayarlanarak 0.25 g dolgulu kolondan geçirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 1 g bakterinin adsorpladığı maksimum Cu(II) miktarı 18492 µg, 1 g reçinenin adsorpladığı maksimum Cu(II) miktarı 3077 µg olarak bulunmuştur.

Eser elementler gerçek örneklerde düşük konsantrasyonlarda bulunurlar. Bundan dolayı, düşük miktarda bulunan metal iyonlarının tayin edilebileceği örnek çözeltisinin hacminin (hacime bağlı zenginleştirme) bilinmesi önemlidir. Bundan dolayı seyreltik çözeltilerin büyük hacimlerinin kolondan geçirilmesiyle zenginleştirmenin gerçekleşip gerçekleşmeyeceğini araştırmak için örnek hacminin geri kazanma verimine etkisi incelenmiştir (Varhan Oral 2009). Bu amaçla Cu(II) iyonlarının miktarı sabit tutularak çözelti hacmi artırılmış ve böylece farklı derişimler de çözeltiler hazırlanmıştır. Belirlenen optimum şartlarda yapılan zenginleştirme işlemi sonunda Şekil 4.7 incelendiğinde Cu(II) çözeltisinin hacmi 500 mL olana kadar kantitatif olarak geri alınabilmiş 500 mL'den daha yüksek hacimde ise geri alma yüzdesinin düştüğü gözlenmiştir. Bu nedenle örnek çözelti hacmi 500 mL olarak belirlenmiştir.

Eser elementler gerçek örneklerde çok düşük konsantrasyonlarda bulduklarından tayin edilebilmeleri için zenginleştirme (konsantrasyona bağlı zenginleştirme) faktörünün olabildiğince yüksek olması gerekir. Bu da ancak yüksek örnek hacimlerinin kullanımıyla mümkün olmaktadır. Fakat bu hacimde eser elementlerin kantitatif geri kazanılması da gerekir. Bu nedenle ayrı ayrı içerisinde 25 ve 50 µg/L Cu(II) iyonlarını bulduran 500 mL'lik örnek çözeltiler kolondan geçirilerek

elüasyonu yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda 25 ve 50 µg/L için zenginleştirme faktörü sırasıyla 125 ve 83 olarak bulunmuştur. Bakır iyonlarının 500 mL'lik hacimde konsantrasyonu 0.025 µg/mL'dir. Yani AAS'de tayin sınırı altında oldukları için direk olarak tayin edilemezler. Ancak geliştirdiğimiz zenginleştirme yöntemi ile Cu(II) 125 kat zenginleşip konsantrasyonu 3.125 µg/mL olur. 0.05 µg/mL Cu(II) 83 kat zenginleşir ve konsantrasyonu 4.15 µg/mL olur bu da AAS ile direk olarak tayin edilebilir.

Zenginleştirme çalışmalarında biyosorbentin tekrar tekrar kullanıldığında bile aynı kararlılıkta doğru sonuçlar vermesi modifiye ettiğimiz biyosorbent miktarı için önemli bir faktördür. Bu amaçla yapılan çalışmaların sonuçları Şekil 4.8 incelendiğinde biyosorbentin yaklaşık 60 defa kullanımına kadar geri kazanım verimlerinde değişimin olmadığı görülmüş ve adsorbanın tekrar tekrar kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır. Yapılan çalışma süresince biyosorbent değiştirilmeden kullanılmıştır. Ayrıca biyosorbent uzun süre bekletildiği halde özelliği ve tutma kapasitesi önemli derecede değişmeden kalmıştır.

Geliştirilen yöntem örnek çözelti ortamından bakır elementinin geri kazanılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Fakat tayin edilecek olan elementlerin bulunduğu ortam örnek çözelti ortamından farklı olarak girişim yapan türler içermektedir. Bu nedenle alevli AAS ile tayinlerde girişim yaptığı düşünülen ve ortamda bulunabilecek doğal su örneklerinin temel bileşenlerinden olan Na⁺, K⁺, Mg²⁺ ile Cl⁻, NO₃⁻ iyonların geliştirilen katı faz ekstraksiyonu yöntemiyle zenginleştirilen Cu(II) iyonlarının geri kazanma değerlerine olan etkisi araştırılmıştır. Bu sebeple geliştirilen tayin yönteminin bu iyonların yüksek derişimler de bulunmaları halinde de uygulanıp uygulanmayacağı araştırılmıştır. Girişim yaptığı düşünülen bu türler örnek çözeltilere eklenmiş ve pH'sı 7.0'ye ayarlandıktan sonra kolondan geçirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7'de verilmektedir. Ortam iyonlarını içeren örnek çözeltide geri kazanılan bakır iyonlarının kazanımları üzerine matriks iyonlarının etkisi görülmüştür. Bu sonuçlar doğrultusunda Na⁺, K⁺, Cl⁻ iyonlarının örnek çözelti ortamında derişimleri arttıkça geri kazanım değerlerinde düşme (engelleme) gözlenirken Mg²⁺ ve NO₃⁻ iyonlarının örnek çözelti ortamında derişimleri arttıkça geri kazanım değerlerinde yükselme olduğu gözlenmektedir.

Örnek çözelti ortamında geliştirilen ayırma ve zenginleştirme yönteminin Cu(II) için istatistiksel değerlendirilmesi Çizelge 4.8’de verilmiştir. Yöntemin optimum şartlarda 5 tekrar deneyi için geri kazanma veriminin tekrarlanabilirliği (kesinliği), % 95 güven seviyesinde % 100.88 ± 1.57 olarak bulunmuştur. Ayrıca % 95 güven seviyesinde, 5 tekrar deneyi için % bağıl standart sapma değeri ise % 1.25 olarak bulunmuştur.

Geliştirilen zenginleştirme yöntemimiz Dicle Nehri, Elazığ Maden Çayı, Hazar Gölü ve musluk suyu örneklerine uygulanmıştır. Çizelge 4.9 incelendiğinde Cu(II) iyonlarının tayin sonucu elde edilen değerleri, Dicle nehir suyu örneği için 21.56 ± 0.88 µg/L, Maden Çayı suyu için 37.04 ± 1.25 µg/L, Hazar Gölü suyu için 25.68 ± 0.92 µg/L, musluk suyu için 7.76 ± 0.49 µg/L olarak, hesaplanan bağıl standart sapma değerleri ise sırasıyla % 3.25, % 2.72, % 2.87, % 5.14 olarak bulunmuştur.

Geliştirilen yöntemin hem doğruluğunu incelemek hem de uygulanabilirliğini göstermek amacıyla standart referans maddeye (NCS-DC 73350) uygulanmıştır. Cu(II) iyonu için bulunan değer µg/g cinsinden 8.70, bu sonuç ile hesaplanan yüzde bağıl hata ise -6.45 olarak tayin edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.10’da verilmiştir. Yöntemde bulunan değer ile sertifikalı örnekte bulunan değer birbirine yakın olduğu görülmektedir.

Cu(II) iyonlarının gözlenebilme sınırının tayini için şahit çözeltilere (N=10) geliştirilen yöntem uygulanmıştır. Kör değerlerin standart sapmasının üç katını esas alan gözlenebilme sınırı değeri zenginleştirme faktörüne bölünerek hesaplanmıştır. Gözlenebilme sınır değeri Cu(II) iyonu için 0.16 µg/L olarak bulunmuştur.

6. KAYNAKLAR

Adıgüzel, A. 2006. Bazı Termal Tesislerden Alınan Su Örneklerinden İzole Edilen Termofilik Bakterilerin Moleküler Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 5.

Arce, L. Kuban, P. Rios, A. Valcárcel M. Karlberg, B. 1999. On-line ion-exchange preconcentration in a flow injection system coupled to capillary electrophoresis for the direct determination of UV absorbing anions. *Analytica Chimica Acta*, 390(1-3): 39-44.

Atanassova, D. Stefanova, V. Russeva, E. 1998. Co-precipitative preconcentration with sodium diethyldithiocarbamate and ICP-AES determination of se, Cu, Pb, Zn, Fe, Co, Ni, Mn, Cr and Cd in water. *Talanta*, 47(5): 1237-1243.

Aydemir, N. 2009. Karbon Nanotüplere Tutturulmuş *Escherichia Coli* ile Bazı Eser Elementlerin Ayrılması / Zenginleştirilmesi ve Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile Tayini. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 11, 12.

Aydın, F. 2008. Birlikte Çöktürme ve Katı Faz Özütlemesi ile Bazı Ağır Metal İyonlarının Zenginleştirilmeleri. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 7, 8, 26.

Bae, S.Y. Southard G. L. Murrary, G. M. 1999. Molecularly imprinted ion-exchange resin for purification, preconcentration and determination of UO_2^{2+} by spectrophotometry and plasma spectrometry. *Anal. Chim. Acta.*, 397(1): 173-181.

Bag, H. Lale, M. Turker, A.R. 1998. Determination of iron and nickel by flame atomic absorption spectrophotometry after preconcentration on *Saccharomyces cerevisiae* immobilized sepiolite. *Talanta*, 47 (3): 689-696.

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

Bag, H. Turker, A.R. Lale, M. 2000. Determination of Cu, Zn, Fe, Ni and Cd by flame atomic absorption spectrophotometry after preconcentration by *Escherichia coli* immobilized on sepiolite. *Talanta*, 51(5): 1035-1043.

Bakır (<http://tr.wikipedia.org/wiki/Bak%C4%B1r>), Erişim Tarihi: 12.06.2011.

Bayram, E. 2004. Atık Sularda Kirletici Olarak Bulunabilen Bazı Ftalik Asit Esterlerinin Adsorpsiyon Yoluyla Uzaklaştırılmasının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya, 51.

Baytak, S. 2003. Mn(II), Co(II), Fe(III) Ve Cr(III) İyonlarının Mikroorganizma Tutturulmuş Amberlit XAD-4 Kullanılarak Katı Faz Özütleme Tekniği ile Zenginleştirilme Şartlarının Araştırılması ve Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi ile Tayini. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 5.

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

Baytak, S. Türker, A.R. 2005. Determination of iron(III), cobalt(II) and chromium(III) in various water samples by flame atomic absorption spectrometry after preconcentration by means of *Saccharomyces carlsbergensis* immobilized on Amberlite XAD-4. *Microchim. Acta*, 149: 109-116.

Baytak, S. Türker, A.R. 2005. The use of *Agrobacterium tumefaciens* immobilized on Amberlite XAD-4 as a new biosorbent for the column preconcentration of iron(III), cobalt(II), manganese(II) and chromium(III). *Talanta*, 65(4): 938-945.

Breierova, E. Vajczikova, I. Sasinkova, V. Stratilova, E. Fisera, I. Gregor, T. Sajbidor, J. 2002. Biosorption of cadmium ions by different yeast species. *Z. Naturforsch.* 57(7-8):634-639.

Caner, B. 2006. Amberlit XAD-7 Reçinesi ile Metal Zenginleştirilmesi ve AAS ile Tayinleri. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 21.

Camel, V. 2003. Solid phase extraction of trace elements, *spectrochim. Acta*, 58(7): 1177-1233.

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

Çalışır, F. 2008. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresinde Bazı Eser Elementlerin Tayin Öncesi Çeşitli Yöntemlerle Ayrılması ve Zenginleştirilmesi. Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 32.

Dalman, Ö. 2003. Yeni Bir Reaktif Kullanarak Doğrudan ve Katı Faz Ekstraksiyonu ile Bakır(II)'nin Kantitatif Tayini. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 21.

Dapaah, A. R. K. Ayame, A. 1998. Solvent extraction of arsenic from acid medium using zinc hexamethylenedithiocarbamate as an extractant. *Anal. Chim. Acta*, , 360(1-3): 43-52.

Derekova, A. Sjöholm, C. Mandeva, R. Kambourova, M. 2007. *Anoxybacillus rupiensis* sp. Nov., a novel thermophilic bacterium isolated from rupi basin (Bulgaria). *Extremophiles*, 11: 577–583.

Dogru, M. Gul-Guven, R. Erdogan, S. 2007. The use of *Bacillus subtilis* immobilized on Amberlite XAD-4 as a new biosorbent in trace metal determination. *J. Of Hazard.*, 149(1): 166–173.

Duran, C. 2000. Bazı Eser Elementlerin XAD-2000 Reçinesinde Zenginleştirildikten Sonra AAS ile Analizleri. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 39, 45.

Elçi, L. Soylak, M. Doğan, M. 1992. Preconcentration of trace metals in river waters by the application of chelate adsorption on Amberlite XAD-4 fresenius. *J. Anal. Chem.*, 340(1-2): 175-178.

Ercan, Ö. 2008. Bakır(II) İyonunun Katı Faz Ekstraksiyonu AAS Kombinasyonu ile Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 14, 29, 42.

Erdogan, S. Merdivan M. Hamamci, C. Akba, O. Baysal, A. 2004. Polymer supported humic acid for seperation and preconcentration of thorium (IV). *Anal. Lett.*, 37(12): 2565-2575.

Erdoğan, N. 2005. Birlikte Çöktürme ile Eser Düzeydeki Bazı Metal İyonlarının Zenginleştirilmesi ve AAS ile Tayinleri. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 5.

Eskandari, H. Ghaziaskar, H. S. Ensafi, A. A. 2001. Solid-liquid separation after liquid-liquid extraction using α -benzilmonoxime-molten benzophenone for preconcentration and selective spectrophotometric determination of palladium. *Anal. Lett.*, 34(14): 2535-2546.

Ferreira, S. L. C. Ferreira, J. R. Dantas, A. F. Lemos, V. A. Araujo, N. M. L. Spinola Costa, A. C. 2000. Copper determination in natural water samples by using FAAS after preconcentration on to Amberlite XAD-2 loaded with calmagite. *Talanta*, 50(6): 1253-1259.

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

Ghaedi, M. Niknam, K. Taheri, K. Hossainian, H. Soylak, M. 2010. Flame atomic absorption spectrometric determination of copper, zinc and manganese after solid-phase extraction using 2,6-dichlorophenyl-3,3-bis(indolyl)methane loaded on Amberlite XAD-16. *Food Chem Toxicol.*, 48(3): 891-897.

Göllü Özcan, S. 2010. Karbon Nanotüpler Kullanılarak Metal İyonlarının Katı-Faz Ekstraksiyonu ve Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi İle Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1, 43.

Gündüz, T. 2005. Kantitatif Analiz Ders Kitabı. Gazi Kitapevi, 8. Baskı, Sayfa: 25-27, 42, 43, Ankara.

Harnly, J.M. Smith, C.M.M. Wiechems, D.N. Ivaldi, J.C. Lundberg, P.L. and Radziuk, B. 1997. Use of a segmented array charge coupled device detector for continuum source atomic absorption spectrometry with graphite furnace atomization. *J. Anal. At. Spectrom.*, 12: 617-627.

Harnly, J.M. 1999. The future of atomic absorption spectrometry: a continuum source with a charge coupled array dedector. *J. Anal. At. Spectrom.*, 14(2): 137-146.

Hennion, M.C. 1999. Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. J. Chromatogr., 856(1-2): 3-54.

İleri, R. Mavituna, F. 1991. Biosorption of copper from aqueous solutions by immobilised *Rhizopus arrhizus*. in. 1st international symposium on environmental pollution, İzmir, (1): 74-79

İleri, R. Sümer, B. Şengörür, B. (1994) Atıksulardaki Bakır(II) İyonlarının Biyosorpsiyon İle Uzaklaştırılması. Ekoloji, (11): 16-21.

İleri, R. Çakır, G. 2006. Bakır İyonlarının (Cu^{+2}) Sıvı Ortamdan Biyosorpsiyonla Gideriminin İzoterm Sabitlerinin Matlab Programı İle Belirlenmesi. Ekoloji, 15(59): 8-17.

İnce, M. 2005. Ultra Eser Düzeydeki Ağır Metallerin Amberlite-XAD İle Önderiştirilmesi ve Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresiyle Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 29, 46.

Kara, D. Alkan, M. 2002. Preconcentration and seperation of copper(II) with solvent extraction using n,n-bis(2-hydroxy-5-bromo-benxyl)1,2-diamino propane. Microchem.J., 71(1): 29-39.

Kara, E. 2006. Amberlite XAD-1180 / Salisilaldoksim Şelat Yapıcı Reçinesinin Sentezi ve Bazı Eser Metal İyonlarının Zenginleştirilerek FAAS ile Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2, 8, 13, 14, 20.

Karaboyacı, M. 2010. Modifiye Edilmiş Lignoselülozikler ile Ağır Metal Adsorpsiyonu. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 11.

Kariper, İ.A. 2008. Katı Faz Ekstraksiyonu ile Eser Element Zenginleştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 13, 24.

Kartal, G. Güven, A. Kahvecioğlu, Ö. Timur, S. 2011. Metallerin Çevresel Etkileri-II(http://www.metalurji.org.tr/dergi/dergi137/d137_4651.pdf), Erişim Tarihi: 12.06.2011.

King, J. N. Fritz, J. S. 1985. Concentration of metal ions by complexation with sodium bis(2-hydroxyethyl)dithiocarbamate and sorption on XAD-4 resin. *Anal. Chem.*, 57(6): 1016-1020.

Kojima, I. Takayanagi, A. 1996. Inter-laboratory note. Selective extraction and one-drop flame atomic absorption spectrometric determination of trace amounts of silver in highly-pure copper and lead. *J. Anal. At. Spectrom.*, 11(8): 607-610.

Lale, M. Sahin, N. Temoçin, Z. 2005. Adsorption of Fe²⁺ ions with *Saccharomyces cerevisiae* immobilized pumice stone. *G.U. Journal Of Science*, 18(3): 365-373.

Lee, W. Lee, S.-E. Lee, C.-H. Kim, Y.-S. Lee, Y.-I. 2001. A chelating resin containing 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol as the functional group; synthesis and sorption behavior for trace metal ions. *Microchemical Journal*, 70(3): 195-203.

Leyden D. E. Wegschekder, W. 1981. Preconcentration for trace element determination in aqueous samples. *Anal. Chem.*, 53(9): 1059-1065.

Liu, Y. Mou, S. Heberling, S. 2002. Determination of trace level bromate and perchlorate in drinking water by ion chromatography with an evaporative preconcentration technique. *J. Chromatogr.*, 956(1-2): 85-91.

Mack, C. Wilhelm, B. Duncan, J.R. Burgess, J.E. 2007. Biosorption of precious metals. *Biotechnology Advances*, 25(3): 264-271.

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

Marahel, F. Ghaedi, M. Montazerzohori, M. Biyareh, MN. Kokhdan, SN. Soyak, M. 2011. Solid-phase extraction and determination of trace amount of some metal ions on Duolite xad 761 modified with a new schiff base as chelating agent in some food samples. *Food Chem Toxicol.*, 49(1): 208-214.

Mataix, E. Luque De Castro, M. D. 2001. Determination of anthocyanins in wine based on flow injection, liquid-solid extraction, continuous evaporation and high-performance liquid chromatography-photometric detection. *J. Chromatogr.*, 910(2): 255-263.

Matheickal, J.T. Yu, Q. 1997. Biosorption of lead(II) from aqueous solutions by *Phellinus badius*. Mineral Eng, 10(9): 947-957.

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

Mizuke, A. 1986. Preconcentration techniques in inorganic trace analysis, Fresenius z. Anal. Chem. 324: 672-677.

Narin, İ. Soylak, M. Elçi, L. Doğan, M. 2000. Determination of trace metal ions by AAS in natural water samples after preconcentration of pyrocatechol violet complexes on an activated carbon column. Talanta, 52(6): 1041-1046.

Narin, İ. Soylak, M. Kayakırılmaz, K. Elçi, L. Doğan, M. 2003. preparation of a chelating resin by immobilizing 1-(2-pyridylazo) 2-naphthol on Amberlite XAD-16 and its application of solid phase extraction of Ni(II), Cd(II), Co(II), Cu(II), Pb(II) and Cr(III) in natural water samples. Analytical Letters, 36(3): 641-658.

Novic, M. Gucek, M. 2000. Ion exchange-based preconcentration for the determination of anions by capillary electrophoresis. J. Chromatogr. , 868(1): 135-139.

Novic, M. Gucek, M. Tursic, J. Liu Y. Avdavic, N. 2001. Ion-exchange-based eluent-free preconcentration of some anions. J. Chromatogr. , 909(2): 289-296.

Okamoto, Y. Nomuro, Y. Naakamura, H. Iwamaru, K. Fujiwara, T. Kumamaru, T. 2000. High preconcentration of ultra trace metal ions by liquid-liquid extraction using water/oil/water emulsions as liquid surfactant membranes. Microchem. J., 65(3): 341-346.

Özdağ Höl, A. 2005. İnorganik Arsenik Deriştirilmesi ve Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 52.

Özdemir, S. 2008. Ağır Metallerin Değişik Termofilik Bakterilerdeki Akümülayonu, Biyosorbsiyonu ve Çevre Biyoteknolojisinde Kullanımı Üzerine Çalışmalar. Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 6, 49.

Özkan, T. 2007. Kahraman Maraş Bölgesindeki Akarsu ve Kaynak Sularındaki Demir, Nikel, Kobalt ve Kromun Çöktürme/ Önzenginleştirme ve Alev Atomik Absorpsiyon Spektrometresiyle Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, 1.

Robles, L.C. Aller, A.J. 1994. Preconcentration of beryllium on the outer membrane of *Escherichia coli* and *Pseudomonas putida* prior to determination by electrothermal atomic absorption spectrometry. J. Anal. A.Spectrum., 9(8): 871-878.

Sağlam Ertunga, E. 2006. Termofilik *Anoxybacillus gonensis* G2 Suşunun Fruktoz-1,6-Bisfosfat Aldolaz Geninin Klonlanması, Ekspresyonu ve Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 20.

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

Sekhar, C.K. Chary, S.N. Tirumala K.C. Aparna V. 2003. Determination of trace metals in sea water by ICP-MS after matrix separation. Acta Chim. Slov. 50(3): 409-418.

Sheng, P.X. Ting, Y-P. Chen, J.P. Hong, L. 2004. Sorption of lead, copper, zinc and nickel by marine algal biomass: characterization of biosorptive capacity and investigation of mechanisms. Journal of Colloid and Interface Science, 275(1): 131-141.

Soylak, M. 1993. Kayseri ve Çevresindeki Şifalı Suların Kimyasal İncelenmesi ve Tungsten Tayini İçin Yeni Bir Yaklaşım. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 22.

Soylak, M. Tuzen, M. Mendil, D. Turkekul, I. 2006. Biosorption of heavy metals on *Aspergillus fumigatus* immobilized Diaion HP-2MG resin for their atomic absorption spectrometric determinations. Talanta, 70(5): 1129-1135.

Stafiej, A. Pyrzynska, K. 2008. Solid phase extraction of metal ions using carbon nanotubes. Microchemical Journal, 89(1): 29-33.

Şahan, S. 2006. Amberlite XAD-1180 Reçinesinin Yeni Bir Şelat Yapıcı Reaktif ile Doyurularak Eser Düzeydeki Ağır Metallerin Sorpsiyon Özelliklerinin Belirlenmesi

ve FAAS ile Tayinleri. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 17, 18,19.

Şeren, G. 2000. Bazı Eser Elementlerin Bentonit Üzerinde Zenginleştirilerek Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile Tayini. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, 23, 32.

Tek, S. 2005. Bakır İyonlarının Karmosin Kaplanmış XAD-16 Reçinesi Üzerinde Zenginleştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 16.

Tewari, P.K. Singh, A.K. 2000. Thiosalicylic acid-immobilized Amberlite XAD-2: metal sorption behaviour and applications in estimation of metal ions by flame atomic absorption spectrometry. *The Analyst*, 125(12): 2350 – 2355.

Tewari, P.K. Singh, A.K. 2001. Preconcentration of lead with amberlite XAD-2 and amberlite XAD-7 based chelating resins for its determination by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 56(4): 735-744.

Timür, İ. 2009. Toksik Eser Metallerin Polimerik Reçineler Kullanılarak Önderiştirilmesi ve AAS İle Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 20-22, 39.

Tunceli, A. Turker, A. R. 2000. Flame atomic absorption spectrometric determination of silver after preconcentration on Amberlite XAD-16 resin from thiocyanate solution. *Talanta*, 51(5): 889-894.

Tunçeli, A. 1998. Altın, Gümüş ve Palladyum'un Amberlite XAD-16 ile Zenginleştirme Şartlarının Araştırılması ve Alevli AAS ile Tayini. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 3.

Tuzen, M. Soylak, M. Elçi, L. 2005. Multi-element pre-concentration of heavy metals ions by solid phase extraction on Chromosorb 108. *Analytica ChimicaActa*, 548(1-2): 101-108.

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

Tuzen, M. Uluozlu, O.D. Usta, C. Ve Soylak, M. 2007. Biosorption of copper(II), lead(II), iron(II) and cobalt(II) on *Bacillus sphaericus*-loaded Diaion SP-850 resin. *Anal. Chim. Acta*, 581(2): 241-246.

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

Türker, A.R. Baytak, S. 2004. Use of *Escherichia coli* immobilized on Amberlite XAD-4 as a solid-phase extractor for metal preconcentration and determination by atomic absorption spectrometry. *Anal. Sci.*, 20(2): 329-334.

Uluözlu, Ö. D. 2010. Bazı Eser Elementlerin Zenginleştirilmesi, Türleştirmesi ve Biyosorpsiyonu. Doktora Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, 22, 23, 25, 55, 65-67.

Valdman, E. Erijman, L. Pessoa, F.L.P. Leite, S.G.F. 2001. Continuous biosorption of Cu and Zn by immobilized waste biomass *Sargassum* sp.. *Process Biochemistry*, 36(8-9): 869-873.

Vanderwerf, S.M. Cooper, M.J. Stetsenko, I.V. Lutsenko, S. 2001. Copper specifically regulates intracellular phosphorylation of the Wilson's disease protein, a human copper-transporting atpase. *J. Biol. Chem.* 276(39): 36289-36294.

Varhan Oral, E. 2009. 1,6-Bis(2-Karboksi Aldehit Fenoksi)Bütan ile Modifiye Edilmiş Amberlit XAD-16 Reçinesinden Yararlanılarak Kurşun, Kadmiyum, Çinko, Bakır ve Nikel İyonlarının Önderiştirilmeleri ve Çözültiden Ayrılmalarının İncelenmesi. Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 7, 9, 16, 21, 63, 136.

V. Oral, E. Dolak, I. Temel, H. Ziyadanogulları, B. 2011. Preconcentration and determination of copper and cadmium ions with 1,6-bis(2-carboxy aldehyde phenoxy) butane functionalized Amberlite XAD-16 by flame atomic absorption spectrometry. *J.Hazard. Mater.*, 186(1): 724-730.

Veglio, F. Beolchini, F. 1997. Removal of Heavy Metals by Biosorption: A review. *Hydrometallurgy*, 44(3): 301-306.

Venkatesh, G. Singh, A. K. 2005. 2-[[1-(3,4-dihydroxyphenyl) methylidene] Amino] benzoic acid immobilized Amberlite XAD-16 as metal extractant. *Talanta*, 67(1): 187-194.

Volesky, B. 1999. Biosorption for the Next Century. In: *International Biohydrometallurgy Symposium*, El Escorial Spain, 161-170.

Volesky B (2004) *Sorption and Biosorption*. BV-Sorbex Inc. Press, Quebec.

Yan, G. Viraraghavan, T. 2001. Heavy metal removal in a biosorption column by immobilized *M. rouxii biomass*. *Bioresource Technology*, 78(3): 243-249.

Yavuz, O. Aksoy, A. 2006. Örnek Hazırlamada Katı Faz Ekstraksiyonu Metodu. *F. Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi*. 20(3): 259-269.

Yılmaz, V. 2006. Amberlite XAD-1180/Tan Şelat Yapıcı Reçinesi ile Katı Faz Ekstraksiyonu Sonrası Bazı Eser Metallerin FAAS ile Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 3, 22.

Zief M., *Solid Phase Extraction for Sample Preparation*, Phillipsburg, JT Baker, 2005.

Zouboulis, A.I. Loukidou, M.X. Matis, K.A. 2004. Biosorption of toxic metals from aqueous solutions by bacteria strains isolated from metal-polluted soils. *Process Biochemistry*, 39(8): 909-916.

Zolotov, Y.A. Kuz'min, N.M. 1990. *Preconcentration of trace elements*, Elsevier Science Publishing Co., Amsterdam, 25: 372

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Zehra AKSOY
Doğum Yeri : Diyarbakır
Doğum Tarihi : 31.01.1986
Lisans Öğrenimi : Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya
Bölümü (2009)
Yüksek Lisans Öğrenimi : Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Analitik Kimya Anabilim Dalı
E-mail Adresi : zehraakmermer@gmail.com