

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

BAZI AĞIR METALLERİN MİKROORGANİZMA
İMMOBİLİZE EDİLMİŞ PONZA TAŞINDA ADSORPSİYON
ŞARTLARININ ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez No:Kim.Y.L. 007

98234

Tezi Hazırlayan
Zülfikar TEMOÇİN

Tez Yöneticisi
YRD.DOÇ.DR. MUSTAFA LALE

KIRIKKALE – 2000

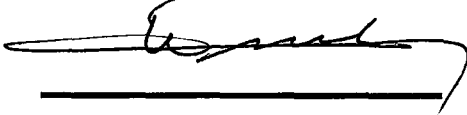
T.C. YÜKSEK ÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Fen Bilimleri Enstitüsünce Yüksek Lisans Tezi Olarak Uygun Bulunmuştur.

.16..1.02..12000


Doç. Dr. M. Yakup ARICA
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Derecesini Tamamlamak İçin Tezin Yeterli Olduğunu Onaylıyorum.


Anabilim Dalı Başkanı

Bu Tezi Okuduk. Bizim Açımızdan Tezin Kapsamı ve Kalitesi Yüksek Lisans Derecesini Tamamlamak İçin Yeterli ve Uygundur.

Yardımcı Danışman

Yrd. Doç. Dr. Mustafa Lale

Danışman

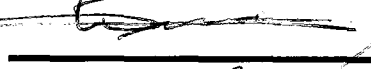



Tez Jürisi Üyeleri

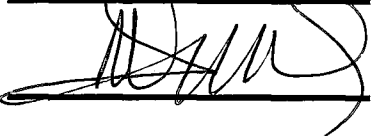
Prof. Dr. Mustafa Özcimder

Prof. Dr. A. Rehber Türker

Yrd. Doç. Dr. Mustafa Lale







İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
SUMMARY	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
1.GİRİŞ	1
2. AĞIR METAL KİRLİLİĞİ.....	3
2.1. Sulardaki Ağır Metal Kirliliği.....	3
2.1.1. Bakır.....	5
2.1.2. Nikel.....	7
2.1.3. Çinko	8
2.1.4. Kurşun	8
2.2. Ağır Metal Kirliliğinin Biyosorpsiyonla Giderilmesi.....	9
3.MAYALAR ve İMMOBİLİZASYON YÖNTEMLERİ	18
3.1. Mayalar	18
3.1.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 'nın özellikleri.....	19
3.2. Mayaların Gelişme Koşulları	19
3.3. Mayaların Metal Tutması.....	21
3.4. İmmobilizasyon Yöntemleri.....	25
3.4.1. Yüzeyle immobilizasyon.....	26
3.4.2. Gözenekli matriks içinde hapsetme	27
3.4.3. Engel arkasında tutma.....	28
4. DENEYSEL KISIM.....	30
4.1. Cihaz ve Malzemeler.....	30
4.1.1. Atomik absorpsiyon spektrofotometresi	30
4.1.2. pH metre.....	30

4.2. Reaktif Çözeltiler ve Hazırlanmaları	31
4.2.1. Stok bakır çözeltisi; 1000 µg/mL.....	31
4.2.2. Stok çinko çözeltisi; 1000 µg /mL	31
4.2.3. Stok nikel çözeltisi; 1000 µg /mL.....	31
4.2.4. Standart çözeltiler; 100 µg /mL	31
4.2.5. Sodyum klorür çözeltisi; 1 M.....	32
4.2.6. Sodyum klorür çözeltisi; 0,5 M.....	32
4.2.7. Sodyum klorür çözeltisi; 0,1 M.....	32
4.2.8. Potasyum klorür çözeltisi; 1 M.....	32
4.2.9. Potasyum klorür çözeltisi; 0,5M	32
4.2.10. Potasyum klorür çözeltisi; 0,1 M	33
4.2.11. Potasyum tiyosiyanat çözeltisi; 0,1M	33
4.2.12. Amonyum klorür çözeltisi; 0,1M.....	33
4.2.13. Sodyum karbonat çözeltisi; 0,1M	33
4.2.14. Glisin, glisin hidroklorür tamponu; pH:2.....	33
4.2.15. Asetik asit, sodyum asetat tamponu; pH:4.....	34
4.2.16. Sitrat tamponu; pH:6.....	34
4.2.17. Fosfat tamponu; pH:6.....	34
4.2.18. Amonyak, amonyum klorür tamponu; pH:8.....	34
4.2.19. Hidroklorik asit çözeltisi; 1M	34
4.2.20. Hidroklorik asit çözeltisi; 0,5M	35
4.2.21. Hidroklorik asit çözeltisi; 0,1M	35
4.2.22. Kalibrasyon çözeltileri	35
4.2.23. Ponza taşı	35
4.3. Mikroorganizmanın Hazırlanması	37
4.3.1. Katı ortam.....	37
4.3.2. Sıvı ortam.....	37
4.4. Mikroorganizmanın İmmobilizasyonu.....	37
4.5. Adsorpsiyon Çalışması.....	38

4.6. Desorpsiyon Çalışması.....	39
4.7. Hesaplama Yöntemi	39
4.8. AAS İle Analiz Yöntemi	40
4.9. Deneyler	40
4.9.1. pH'nın adsorpsiyona etkisi.....	40
4.9.2 Zamanın adsorpsiyona etkisi.....	41
4.9.3. Başlangıç derişiminin adsorpsiyona etkisi.....	42
4.9.4. Desorpsiyon yöntemi	42
4.9.5 Tekrar kullanılabilirlik	43
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	44
5.1. pH'nın Adsorpsiyona Etkisi.....	45
5.2 Zamanın Adsorpsiyona Etkisi.....	46
5.3. Başlangıç Derişiminin Adsorpsiyona Etkisi	49
5.4 Desorpsiyon.....	54
5.5. Tekrar Kullanılabilirlik	56
SONUÇLAR	57
KAYNAKLAR	58
ÖZGEÇMİŞ	64

BAZI AĞIR METALLERİN MİKROORGANİZMA İMMOBİLİZE
EDİLMİŞ PONZA TAŞINDA ADSORPSİYON ŞARTLARININ
ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Bu çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* ponza taşına immobilize edildi. *Saccharomyces cerevisiae* immobilize edilmiş ponza taşında Cu^{2+} , Zn^{2+} ve Ni^{2+} iyonlarının adsorpsiyon şartları araştırıldı. Bu amaçla, maksimum adsorpsiyonun sağlandığı pH değeri belirlendi. Her üç element için de maksimum adsorpsiyonun sağlandığı pH değeri 6 olarak bulundu. Optimum pH değerinde zamanın ve iyon derişiminin adsorpsiyona etkisi incelendi. Ayrıca adsorplanan metallerin geri kazanılmasına, çözelti türü ve derişiminin etkisi araştırıldı. Bu amaçla KCl, KSCN, NaCl, Na_2CO_3 ve NH_4Cl çözeltileri denendi ve 1M'lık KCl (pH=2) çözeltisinin uygun olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler : Adsorpsiyon, *Saccharomyces cerevisiae*, Ponza taşı, İmmobilizasyon,

INVESTIGATION OF THE ADSORPTION CONDITIONS OF SOME
HEAVY METALS ON MICROORGANISM IMMOBILIZED ON
PUMICE STONE

SUMMARY

In this study, *Saccharomyces cerevisiae* was immobilized on pumice stone. The adsorption conditions of Cu^{2+} , Zn^{2+} and Ni^{2+} ions on to *Saccharomyces cerevisiae* immobilized pumice stone were investigated. For this purpose, the pH values of maximum adsorption were determined and found to be as 6 for all studied elements. The effect of mixing time and ion concentration to the adsorption of ions were also investigated. Moreover, the effect of type and concentration of elution solutions to the desorption of adsorbed ions on to *Saccharomyces cerevisiae* immobilized pumice stone was also investigated. For this purpose, KCl, KSCN, NaCl, Na_2CO_3 and NH_4Cl , solutions were tested and 1M KCl solutions (pH=2) was found to be appropriate for all studied elements.

Keywords : Adsorption, *Saccharomyces cerevisiae*, Pumice stone, Immobilization

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım esnasında kıymetli destek ve önerilerini esirgemeyen değerli hocam Sayın Yrd.Doç.Dr. Mustafa LALE'ye, çalışmamın başlangıcından itibaren sürekli yardımını gördüğüm Dr. Hüseyin BAĞ'a ve her zaman desteğini gördüğüm aileme teőekkürü bir borç bilirim.



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Biyolojik malzemelerin ağır metal tutma amaçlı kullanımı	11
Şekil 2.2. Mikroorganizmaların metalleri tutma mekanizması	13
Şekil 3.1. Mikroorganizmanın yüzeye immobilizasyonu	27
Şekil 3.2. Gözenekli matriks içinde mikroorganizma hapsedilmesi	28
Şekil 3.3. Engel arkasında mikroorganizma tutuklanması	29
Şekil 5.1 Mikroorganizma immobilize edilmiş ponza taşında metal adsorpsiyonuna çözelti pH'sının etkisi	45
Şekil 5.2 Mikroorganizma immobilize edilmemiş ponza taşında metal adsorpsiyonuna çözelti pH'sının etkisi	46
Şekil 5.3 Zamanın adsorpsiyona etkisi	48
Şekil 5.4. Başlangıç derişiminin adsorpsiyona etkisi	51
Şekil 5.5. Freundlich izotermi	52
Şekil 5.6 Langmuir izotermi	53

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Bazı Elementlerin Kirlilik Kaynağı ve İnsan Sağlığına Etkisi	4
Çizelge 2.2. Tabii Sularda Eser Metal Kompleks Türleri	6
Çizelge 2.3. İçme Suyu Ağır Metal İyonu Konsantrasyonları	7
Çizelge 3.1. Ölü ve Canlı Mikroorganizma İmmobilize Edilerek Metal Tutmanın Avantaj ve Dezavantajları	24
Çizelge 4.1. Aletsel Parametreler	30
Çizelge 4.2. Ponza Taşının Kimyasal Bileşimi.....	36
Çizelge 4.3. Kullanılan Tampon Çözeltiler	41
Çizelge 5.1. Langmuir ve Freundlich Adsorpsiyon İzoterm Parametreleri	54
Çizelge 5.2. Desorpsiyona Elue Edici Çözelti Türü ve Değişiminin Etkisi	55
Çizelge 5.3. Tekrar Kullanılabilirlik	56

1.GİRİŞ

Yeryüzünde nüfus artışı ve sanayinin gelişmesi sonucu hava, toprak ve su kirliliği gittikçe artmaktadır. Meydana gelen bu kirlilik bitki, hayvan ve insan sağlığını tehdit etmektedir. Çevre kirliliğinde ağır metaller bitki, hayvan ve insan sağlığı bakımından büyük önem taşımaktadırlar [1].

Son yıllarda algae, mantar, maya ve bakteri gibi mikroorganizmalar, ağır metalleri atık sulardan uzaklaştırmak, eser metalleri matriksten ayırmak ve zenginleştirmek, amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır [2].

Mikroorganizmalar serbest hücreler halinde kullanıldığı gibi, gözenekli cam, silika jel ve sepiolit gibi katı bir desteğe immobilize edilerek de kullanılmaktadır. Immobilize mikroorganizmaların kullanım süresi, serbest hücrelere göre daha uzundur. Desorpsiyon işleminin kolaylığı ve hücrelerin çözelti ortamından kolayca ayrılması immobilize olmuş hücrelerin üstünlüklerindedir. Ayrıca immobilize mikroorganizmaların aktivitesi ve spesifikliğı de serbest hücrelere göre daha fazladır [3-8].

Biyosorpsiyon olayı, ağır metal ve radyoaktif iyonların mikroorganizmalar ile tutulması olarak tanımlanabilir. Biyosorpsiyonun mekanizması, mikroorganizmanın canlı veya ölü oluşuna, element türü ve mikroorganizma türüne bağlıdır. Ölü hücrelerde tutma olayı metabolizmadan bağımsız olarak büyük çoğunluğu hücre duvarında gerçekleşir. Bu olay, iyon değiştirme, kompleks oluşumu, mikro çökeltme ve hücre duvarına adsorpsiyon şeklinde gerçekleşmektedir [9,10].

Çözeltideki metal iyonları, hücre duvarlarındaki biyopolimerlerde bulunan kimyasal fonksiyonel gruplarla tutulurlar. Yüzeydeki bu bağlanmalar amin, amid, imidazol, hidroksil, karboksil, fosfat, tiyoeter ve diğer fonksiyonel gruplarla gerçekleşir. Ligandların sayısı ve türü metallerin bağlanacağı yerleri belirler. Metabolizmadan bağımsız biyosorpsiyon genellikle hızlı ve pH'ya bağlı olup, 4-30 °C arasında sıcaklıktan bağımsızdır [11-13].

Bu çalışmada mikroorganizma olarak *Saccharomyces cerevisiae*, destek maddesi olarak da ponza taşı kullanılmıştır. Mikroorganizma immobilize edilmiş ponza taşı adsorban olarak kullanılarak bakır(II), çinko(II) ve nikel(II) iyonlarının adsorpsiyon şartları incelenmiştir. İyonların adsorpsiyonuna çözelti pH'sının, başlangıç derişiminin ve zamanın etkisi incelenmiştir. Ayrıca adsorplanmış iyonların geri kazanılması için uygun elue edici çözelti türleri ve derişimleri de araştırılmıştır.

2. AĞIR METAL KİRLİLİĞİ

Çeşitli endüstriyel atıkların ve hızlı nüfus artışına paralel olarak artan evsel atıkların sınıflandırma yapılmadan ve arıtılmadan su kaynaklarına verilmesi, ayrıca tarımda kullanılan gübre ve ilaçlarla kirlenmiş suların da su kaynaklarına karışması, bu kaynakların önemli ölçüde kirlenmesine yol açmaktadır. Kaynaklar kirlendikten sonra alınacak önlemler için geç kalınmış olması yanında, alınan önlemler pahalı da olmaktadır.

2.1. Sulardaki Ağır Metal Kirliliği

Tabii sulardaki inorganik türlerin kaynağı çok çeşitlidir. Bunlardan en önemlileri suyun, toprak ve kayalarla doğrudan temasıdır. Fosil yakıtların yakılması sonucu atmosfere karışan partiküller, madencilik ve benzeri aktiviteler sonucu kirlenmiş olan işlem görmüş veya görmemiş atık suların tabii sulara karışması suda inorganik türlerin artmasına sebep olur [1]. Ağır metal kirliliği içeren atıksular, genellikle asidik, suda yaşayan ve bu suyu kullanan canlılar için çok zehirli, kendi kendine temizlenme veya arıtılmada etken mikroorganizmaları öldürücü nitelikte inorganik karakterli sulardır. Kirlenmeye sebep olan bakır, çinko, nikel, arsenik, civa, krom, kadmiyum, kurşun, demir ve mangan gibi ağır metal iyonlarıdır. Nükleer silahların denenmesi, nükleer endüstri atıkları ve atmosferde oluşan radyoizotoplar bu tür kirliliğin kaynaklarından [9,14]. Çizelge 2.1.'de bazı ağır metallerin kirlilik kaynakları verilmiştir [1].

Metal kirliliği içeren atık su kaynakları üç grupta incelenebilir. Birinci grup, maden ocakları ve işletmeleridir. Demir, bakır, çinko, kurşun, gümüş, altın, uranyum gibi metalleri içeren cevherlerin gerek topraktan çıkarılması, gerek

temizlenmesi, öğütülmesi ve saflaştırılması sırasında oldukça fazla su kullanılır.

Çizelge 2.1. Bazı Elementlerin Kirlilik Kaynağı ve İnsan Sağlığına Etkisi [1]

Metal	Kirlilik Kaynağı	İnsan Sağlığına Etkisi
As	İnsektisitler, herbisit ve pestisitler	Dermatit, bronşit ve deri kanseri
Cd	Elektro kaplama, boya ve kimyasal maddeler	Akciğer amfizemi, hipertansiyon, böbrek bozukluğu ve kanserleşme
Fe	Demir çelik endüstrisi, Fuel-oil ve kömür	Siderosis ve pneumoconiasis
Mn	Demir çelik endüstrisi, Fuel-oil, kömür, kuru pil	Kronik manganez zehirlenmesi ve manganez zatürresi
Ni	Çelik ve nikel alaşım endüstrisi, nikel kaplama, kömür, fuel-oil	Dermatit, solunum bozuklukları ve kanserleşme
Pb	Otomobil eksoz, kömür, yanma ve boyalar	Kurşun zehirlenmesi
Hg	Elektroliz, amalgam hazırlama, ölçüm aletleri yapımı, tarım ilaçları	Kronik civa zehirlenmesi, şiddetli akut nefrit, karaciğer, böbrek ve dalakda toplanma ve bu organlarda bozukluklar

İkinci grup, metal endüstrileridir. Demir çelik endüstrisi, bakır, krom ve çinko endüstrilerinin, çeşitli fiziksel ve kimyasal proseslerinde oldukça fazla su kullanılır ve atık sularında bu maddeleri içerirler.

Üçüncü grup, kirlilik ve zehirlilik potansiyeline sahip çeşitli sanayii kuruluşlarıdır. Metal kaplama sanayii, otomotiv, elektrik ve elektronik malzemeler, mutfak ve ev eşyaları, boru, kapsül, tüfek, makine ve boya endüstrisi atık suları bu grubun içinde yer alırlar [14].

Sulardaki ağır metal iyonları kompleks bileşikleri halinde, hidroliz ürünleri halinde ve iyon halinde bulunabilirler. Çizelge 2.2.'de bazı ağır metallerin suda bulunan kimyasal halleri gösterilmiştir. Bu metaller hakkında kısa bilgi aşağıda verilmiştir [1].

Ağır metaller hem önemli, hem de oldukça tehlikeli maddelerdir. Bu elementlerin çoğu, insan vücuduna su, gıda maddeleri v.b. yollardan girer ve vücuttan atılması güç olduğundan uzun zaman insan vücudunda kalırlar. Böylece insanlarda ciddi hastalıklara yol açarlar. Çizelge 2.3.'de içme sularında bulunmasına izin verilen metal iyonlarının maksimum değerleri verilmiştir [15].

2.1.1. Bakır

En önemli bakır kaynağı kalkopirit (CuFeS_2) mineralidir. Toprakta ortalama bakır seviyesi 20 ppm kadardır. Kömürlerin yanması sonucu oluşan atmosferik partiküllerden, madencilik, elektro kaplama, gübre sanayii gibi birçok sanayii kaynaklarından bakır sulara karışabilir. +1, +2 yükseltgenme basamaklarında bulunabilir. Kararlı basamağı (+2) dir. Bakırın çoğu vücut tarafından atılır, çok az bir kısmı kalır. Yüzey sularında bakır 1 mg/L'nin altındaki

konsantrasyonlarda sulu ortamda yaşayan bitkiler için toksiktir. Sülfat tuzu halinde bitki büyümesini kontrol amacıyla sık sık kullanılır.

Çizelge 2.2. Tabii Sularda Eser Metal Kompleks Türleri [1]

Metal	Kompleks türler
Kadmiyum	
Cd(II)	Cd(OH)^+ , Cd(OH)_3^- , Cd(OH)_4^{2-} , CdCl^+ , CdCl_3^- , CdCl_4^{2-} , $\text{Cd(NH}_3)_4^{2+}$
Bakır	
Cu(I)	Cu(CN)_3^{2-} , $\text{Cu(NH}_3)_2^+$
Cu(II)	Cu(OH)^+ , Cu(OH)_3^- , Cu(OH)_4^{2-} , $\text{Cu(NH}_3)_4^{2+}$, $\text{Cu(CO}_3)_2^{2-}$, CuCl^+ , Cu(HS)_3^-
Demir	
Fe(II)	FeOH^+ , Fe(OH)_3^- , Fe(OH)_4^{2-} , FeCl^+ , $\text{Fe(NH}_3)_4^{2+}$, Fe(CN)_6^{4-} $\text{Fe(sitrikasit)}^{2-}$
Fe(III)	FeOH^{2+} , Fe(OH)_4^- , FeHPO_4^+ , FeCl_4^- , Fe(CN)_6^{3-} , FeF_6^{3-}
Nikel	
Ni(II)	NiOH^+ , Ni(OH)_3^- , Ni(OH)_4^{2-} , Ni(edta)^{2-} , NiCl^+ , NiCl_4^{2-} , $\text{Ni(NH}_3)_6^{2+}$
Kurşun	
Pb(II)	PbOH^+ , Pb(OH)_3^- , $\text{Pb(CO}_3)_2^{2-}$, PbCl^+ , PbCl_6^{4-} , $\text{Pb(CH}_3)_2^{2+}$
Çinko	
Zn(II)	Zn(OH)^+ , Zn(OH)_3^- , Zn(OH)_4^{2-} , ZnCl^+ , ZnCl_3^- , ZnCl_4^{2-} , ZnCl_5^{3-} , Zn(HS)_3^- , $\text{Zn(NH}_3)_4^{2+}$, $\text{Zn(NH}_3)_6^{2+}$
Mangan	
Mn(II)	Mn(OH)^+ , Mn(OH)_3^- , Mn(OH)_4^{2-} , MnHCO_3^+ , MnCl^+ , MnCl_3^- , MnCl_6^{4-} , MnF_3^- , Mn(CN)_6^{4-}

Çizelge 2.3. İçme Suyu Ağır Metal İyonu Konsantrasyonları [15]

<u>Metal iyonu</u>	<u>Müsaade edilen maksimum Derişim (mg/L)</u>
Pb	0.05
Se	0.01
As	0.05
Cr ⁶⁺	0.05
Hg	0.01
Cd	0.005
Cu	1.5
Zn	15.0
Fe	1.0
Mn	0.5
Ni	0.5
Al	2.0

2.1.2. Nikel

Tabiatta elementel nikel nadiren bulunur. Ancak birçok filiz ve mineralde nikel bileşikleri mevcuttur. NiAs, NiSb, NiS ve NiSbS bazı mineralleridir. Ultrabazik kayaların aşınması nikel ve silikatça zengin çözeltiler oluşturur. Ni(II) sulu çözeltilerde çok kararlı olup uzun mesafelere göç edebilir. Nikel çoğunlukla parafin hidrokarbonlarla organometalik bileşikler oluşturur. Fuel-oil'in yakılması sonucu oluşan uçucu kül, nikel bakımından oldukça zengindir. Uçucu külde nikel miktarı %1,8 ve %13,2 arasında bulunmuştur. Nikel ve bileşikleri de genel anlamda toksiktir. Ancak gözlenebilir etkilerinin meydana gelebilmesi için gerekli nikel miktarı, tabii sulara bulunan miktarından daha fazladır.

2.1.3. Çinko

Çinko tabiatta inkoblent (ZnS) olarak bilinen sülfürü halinde bulunur. Çinko bitki ve hayvan türleri için önemli ve gerekli bir elementtir. Çevredeki inko kirlenmesi başlıca çinko ve kurşun eritme işlemlerinden kaynaklanır. Çinko madeni alanlarındaki tabii sularda 50 ppb mertebesinde bulunur. Galvanizlemede, pigment üretiminde, ilaç sanayiinde, boyalarda, kozmetiklerde ve birçok böcek ldrcde kullanılan çinko tuzları endüstriyel atıklarda bulunabilir. Tabii sulardaki çinkonun ana kaynağı çinko içeren gübrelerdir. znr inko tabii sularda yüksek konsantrasyonlarda nadiren bulunur. Galvanizli borulardan geçen eşme suyunda 3-2100 µg/L arasında olabilmektedir.

2.1.4. Kurşun

Çevredeki kurşunun çoğu şu kaynaklardan ileri gelir.

- I) Kurşunlu benzinden
- II) Madencilik ve filizlerin eritilmesinden
- III) Kömürün yanmasından
- IV) Kurşun bazlı boyalardan
- V) Kurşun borulardan
- VI) Lehimden

Sulardaki bu toksik metalin ana kaynaklarından bazıları da birçok kurşun bileşikleri olabilir. Bunlar, yazma ve boyama sanayiinde kullanılan kurşun asetattır. Böcek ldrc ilaçlarda kullanılan kurşunarsenat da toprak ve su kirlenmesinde önemli rol oynar.

2.2. Ağır Metal Kirliliğinin Biyosorpsiyonla Giderilmesi

Atık suların arıtılması ile ilgili kullanılan aktif karbon adsorpsiyonu, iyon değişimi, ters ozmoz gibi değişik metotlar mevcuttur. Bu metotlardan birisi de biyosorpsiyondur. Mikroorganizmaların metalleri tutmasına biyosorpsiyon denir. Metallerin biyosorpsiyonu genelde adsorpsiyon, iyon değiştirme, kompleks oluşumu ve mikro çökeltme olaylarıyla gerçekleşir.

Metallerin biyosorpsiyonu ile ilgili yapılan çalışmalar, biyosorpsiyonun adsorpsiyon izotermlerine uyduğunu göstermiştir. Maya ve mantar türlerinin metal adsorpsiyonu Langmuir ve Freundlich izotermlerine uyar. Bu izoterm türleri yalnızca metallerin adsorpsiyonunun tek tabakalı mı, yoksa çift tabakalı mı olduğunu gösterir. Adsorpsiyon mekanizması hakkında herhangi bir bilgi vermez[9,10,16,17,18]. Freundlich izoterm eşitliği aşağıdaki şekilde verilebilir[19].

$$q = k.C^{1/n} \quad (2.1)$$

Burada;

q = Birim biyokütle tarafından adsorplanan metal miktarı

C = Çözeltideki metal derişimi

k = Freundlich adsorpsiyon sabiti

n = Freundlich izoterm sabiti

Bu model doğru denklemine dönüştürüldüğünde

Log q = Log k + (1/n) Log C denklemi elde edilir. Çizilen grafikden k ve n değerleri bulunur.

Langmuir adsorpsiyon modeli, tek tabakalı adsorpsiyonu tarif eder. Langmuir izoterm eşitliği; [19]

$$C/q = 1/K.b + C/b \quad (2.2.)$$

şeklinde yazılabilir.

Burada;

q = Birim biyokütlenin adsorpladığı metal miktarı

C = Çözeltideki metal derişimi

K = Adsorpsiyon bağlanma sabiti

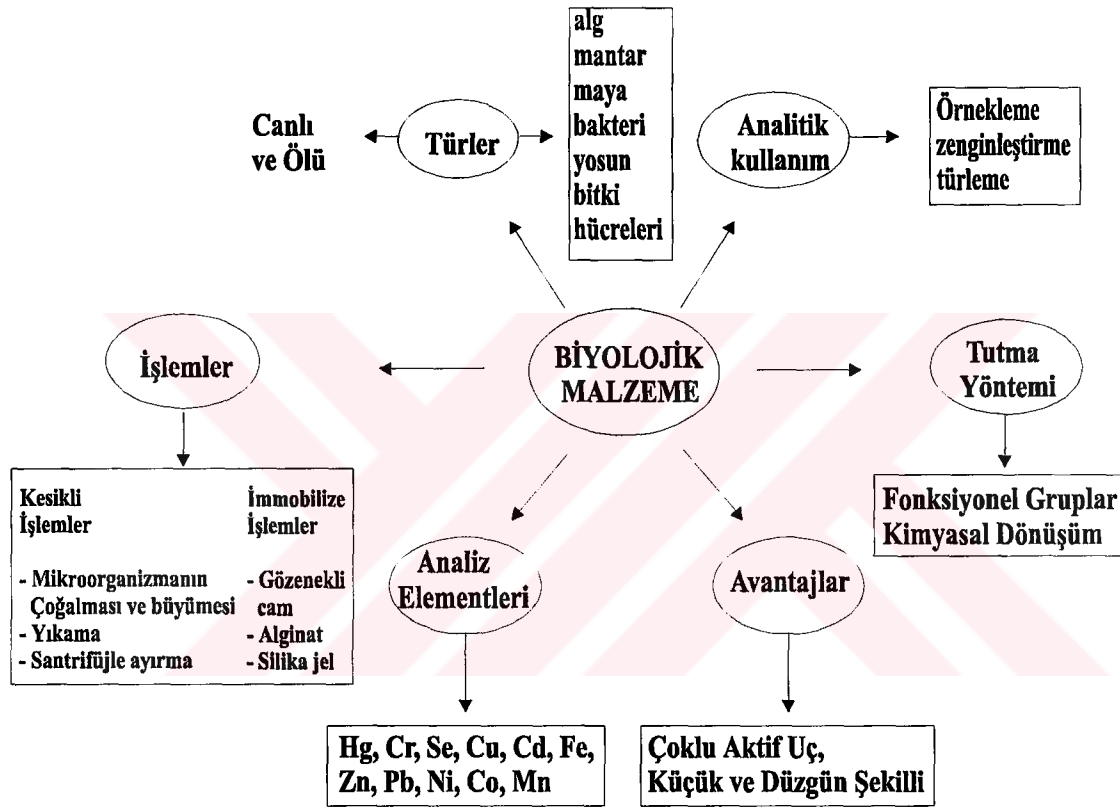
b = Doygunluk kapasitesini sembolize eder.

Metal kirliliğinin giderilmesinde kullanılan aktif karbon adsorpsiyonu, iyon değişimi, ters ozmoz gibi klasik yöntemler, gerek tesis, gerek ekipman ve malzeme açısından pratik ve ekonomik olmaktan uzak olup, düşük konsantrasyonlu (100 mg/L'ye kadar) metal kirliliği yönünden arıtmanın verimi de düşüktür. Bu nedenle mikroorganizmaların metal iyonlarını adsorplama yeteneğinden faydalanarak atıksu arıtımında kullanılmaları düşünülmüştür [20].

Son yıllarda mikroorganizmalar, ağır metallerin ayrılmasında, zenginleştirme ve türleme çalışmalarında ve bunların toksikliğinin tesbitinde kullanılmaktadır. Mikroorganizmaların ağır metal tutma amaçlı kullanımı ve avantajları Şekil 2.1.'de görülmektedir [11]. Biyosorpsiyonda canlı ve ölü mikroorganizmalar kullanılabilir[21,22]. Biyosorpsiyonun mekanizması mikroorganizmaya ve metalin türüne bağlıdır. En önemli mekanizma ise hücre duvarındaki kimyasal fonksiyonel gruplar ile (karboksil, hidroksil, sülfat, fosfat, ve amino grupları gibi) metallerin tutulmasıdır. Diğer biyolojik mekanizma ise metilasyon, demetilasyon ve indirgemedir.

Mikroorganizmaların başlıca avantajları ise

- I) Bir çok aktif uca sahip olmaları
- II) Küçük ve düzgün boyutlu olmaları
- III) İyon değiştirici reğinelere göre alkali ve toprak alkali metallerin daha az girişim yapması



Şekil 2.1 Biyolojik malzemelerin ağır metal tutma amaçlı kullanımını [11]

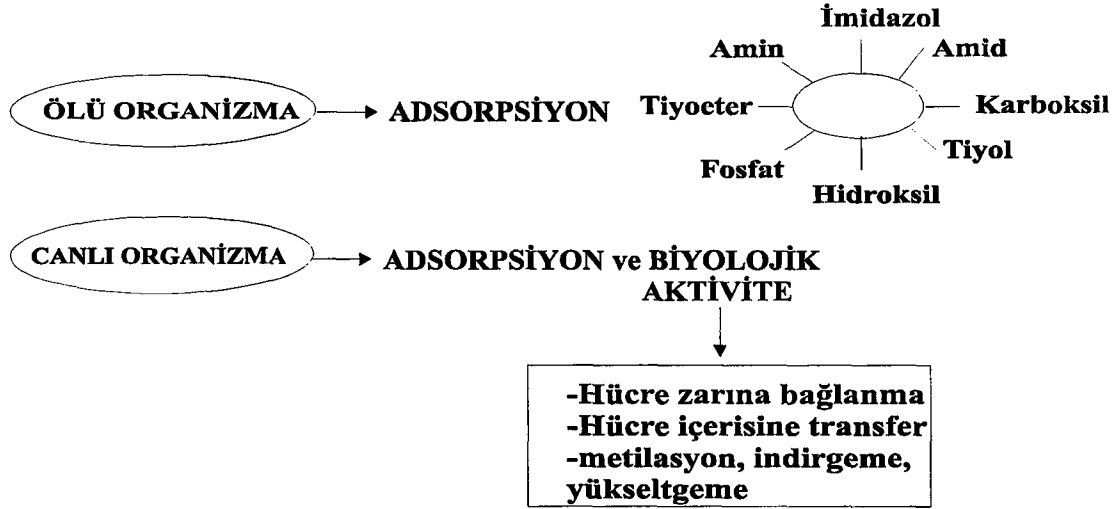
Biyosorpsiyonun mekanizması oldukça karmaşık ve henüz tam olarak anlaşılammıştır. Organizmanın canlı veya ölü olmasına, organizma türüne ve metal türüne bağlıdır. Temel görüşler şematik olarak Şekil 2.2.'de verilmiştir. Canlı ve ölü hücrelerde pasif bağlanmalar olabilir. Hücre yüzeyinde çok hızlı fiziksel adsorpsiyon ve iyon değiştirme gerçekleşir. Aktif bağlanmalar canlı

hücrelerde metabolik aktivitenin bir sonucu olarak çok yavaş olarak gerçekleşir [11].

Algae'nin metal iyonu adsorpsiyonunu üç ana sınıfta toplanabilir [2].

- I) Bu grup Al^{3+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{3+} , Co^{2+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , UO_2^{2+} , Zn^{2+} iyonlarından oluşur. Nötrale yakın pH değerinde kuvvetli bağlanırlar. pH 2'nin altında bağlanma olmadığından kolayca geri kazanılırlar. Çünkü bu pH değerlerinde metal iyonları ile fonksiyonel gruplar arasındaki çekim kuvveti azalır.
- II) Bu grup $PtCl_4^{2-}$, CrO_4^{2-} , SeO_4^{2-} iyonlarından oluşur. Bu iyonlar birinci gruptaki iyonlara ters davranış gösterirler. Bunlar düşük pH değerlerinde kuvvetle bağlanırlar. pH 5'in üzerinde bağlanma olmaz.
- III) Bu grup Ag^+ , Hg^{2+} , $AuCl_4^-$ iyonlarından oluşur. Bütün metallerden daha kuvvetle bağlanırlar. Bu iyonların bağlanmaları pH'dan bağımsızdır.

II. ve III. grup metal iyonları mikroorganizma yüzeyinde elementel hale indirgenirler [23].



Şekil 2.2. Mikroorganizmaların metalleri tutma mekanizması [11]

Asan G. ve Lale M.,[24] *Saccharomyces Cerevisiae*'dan etanol üretimi için besi ortamını optimize etmiştir. Malt extract, yeast extract, glikoz ve pepton (MYGP) ile hazırlanan besi ortamına $(NH_4)_2SO_4$ ve K_2HPO_4 ilave ederek biyokütlerdeki ve etanol üretimindeki değişimi incelemiştir. Standart MYGP ortamına bir azot kaynağı olan yeast extract'ın konsantrasyonunun iki kat artırılması ile büyümede ve etanol üretiminde artış gözlemiştir. Ortama ilave edilen NH_4^+ ve K^+ iyonları hem hücre büyümesinde hemde etanol üretiminde etkili olmuşlardır.

Madrid et al. [25], *Saccharomyces cerevisiae* kullanarak metilciva ve civa (II) iyonlarının türleme çalışmasını yapmışlardır. Çalışmalarında bu iki iyonun adsorpsiyonuna pH'nın, sıcaklığın, inkübasyon zamanının, civa ve maya derişiminin ve ortamda bulunan diğer iyonların etkisini incelemiştir. Metilcivanın, civa(II) iyonundan daha toksik olduğunu belirtmişlerdir. Geniş bir pH aralığında metilcivanın, civa(II) iyonuna göre adsorpsiyonu oldukça yüksektir. Buna sebep olarak metilcivanın organometalik yapısını belirtmişlerdir. Civa(II) iyonunun biyosorpsiyonu inkübasyon zamanı ile,

maya miktarı ve ortamdaki klorür iyonlarının derişimi ile artmıştır. Metilcivanın, maya tarafından civa(II)'ye ve metalik civaya dönüştürüldüğü belirtilmiştir.

Boyer et al.[26], *Thiobacillus ferrooxidans* biyokütlesi ile bakırın biyosorpsiyonunu incelemiştir. Bakır adaptasyonu sağlanmış ve sağlanmamış iki ayrı mikroorganizmanın bakır tutma kapasitesini incelemiştir. Bakır adaptasyonu sağlanmamış biyokütlenin bakır adsorpsiyonun daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ancak bu sonucun kadmiyum için elde edilen sonuçlara göre tam ters bir sonuç olduğunu belirtmişlerdir.

Mahan ve Holcombe [27], algae hücrelerini silika jel üzerine immobilize ederek bunu kurşunun sentetik çözeltilerden uzaklaştırılmasında kullanmışlardır. Ayrıca, serbest ve immobilize algae hücrelerinin adsorpsiyon kapasitelerini ayrı ayrı bularak karşılaştırma yapmışlar ve adsorpsiyon kapasitesini, serbest hücre kullandıklarında 449 ± 49 $\mu\text{mol/g}$, immobilize hücre kullandıklarında 278 ± 25 $\mu\text{mol/g}$ olarak bulmuşlardır. Metallerin bağlandıkları fonksiyonel gruplardan bir kısmının mikroorganizma immobilizasyonu için kullanılması nedeniyle, immobilize hücrelerin adsorpsiyon kapasitesinde yaklaşık %40 azalma olmuştur.

Galun et al. [28], *Penicillium digitatum* mantarını kullanarak sulu çözeltilerden uranyum(VI) iyonlarının ayrılmasını incelemiştir. Bu amaçla mantarı çeşitli ön işlemlerden geçirerek uranyum adsorpsiyonundaki değişiklikleri incelemiştir. Bunun için mantarı ayrı ayrı, sodyum azid(%0,012), etanol(%80), metanol(%80), formaldehit(%10), dimetilsülfoksit, potasyum hidroksit(%5) ve kaynatma işlemi ile muamele

etmiştir. Potasyum hidroksit ile muamele edilen mantarın uranyum adsorpsiyonunun en yüksek olduğunu belirtilmiştir.

İleri et al. [29], *Rhizopus arrhizus*'u gözenekli poliüretan süngere immobilize ederek bakır iyonlarının atık sulardan uzaklaştırılmasını araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada ilk 30 dakikada biyosorpsiyonun tamamlandığını belirtmişlerdir. Ayrıca immobilize mikroorganizmanın adsorpsiyon kapasitesini ve adsorbe olmuş metal iyonlarının geri kazanılma sürelerini incelemişlerdir. Bir saatlik bir süre sonunda %80 desorpsiyon verimi elde edildiğini ve biyosorpsiyonun Freundlich izotermine uygunluk gösterdiğini belirtmişlerdir.

İleri ve arkadaşlarının yaptıkları bir diğer çalışmada[30] ise çinko, nikel kurşun ve mangan'ın biyosorpsiyonunu incelemişlerdir. Adsorbe olmuş metal iyonlarının 0,1 M HCl çözeltisi ile bir saat süre sonunda %70-90 oranında geri kazanıldığını belirtmişlerdir.

Yang ve Volesky [31], ölü algae türü *Sargassum fluitans*'ı önce 0,1N HCl ortamında protonlamışlar, daha sonra biyokütleden proton salınımı yoluyla Cd^{2+} iyonlarının biyosorpsiyonunu incelemişlerdir. Kadmiyum tutulması ve proton salınımının biyosorpsiyon süresince birbiriyle uyum gösterdiğini gözlemişlerdir. Biyosorpsiyon izotermine Langmuir modeline uyduğunu belirtmişlerdir.

Bağ et al. [32] çalışmalarında *Saccharomyces cerevisiae*'yı sepiolite immobilize ederek demir ve nikel'in zenginleştirme şartlarını araştırmışlardır. Bu amaçla pH, adsorban miktarı, elue edici çözelti, çözelti akış hızı ve iyonların girişim etkisini araştırmışlardır. Demir ve nikel'in geri kazanma verimlerini sırasıyla %95 ve %99,5 olarak bulmuşlardır.

You ve Park [33], çalışmalarında Cd^{2+} iyonlarının sulu çözeltilerden uzaklaştırılması amacıyla *Azomonas agilis* PY101 türünü sürekli havalandırılmalı kültür ortamında tutmuşlar, çözeltideki Cd^{2+} iyonlarını yaklaşık %90 uzaklaştırmışlardır. 1mM $CdCl_2$ içeren ortama aşılama yapılmasından 5 gün sonra ortamdaki Cd^{2+} iyonları %92-%96 arasında azalmıştır.

Suh et al. [34] çalışmalarında *Saccharomyces cerevisiae* tarafından tutulan Pb^{2+} iyonlarının hücrelerin iç kısmında biriktiğini gözlemişlerdir. Kuru hücre ağırlığının litrede, 0,56 g'dan 5,18 g'a çıkarılmasıyla mikroorganizmanın Pb^{2+} iyonlarını tutmada dengeye ulaşma süresi 96 saatten 24 saate düşmüştür. Pb^{2+} iyonlarının *Saccharomyces cerevisiae* tarafından üç aşamada tutulduğu gözlenmiştir. Birinci aşama Pb^{2+} iyonlarının hücre duvarına tutunması olup 3-5 dakikalık bir sürede metabolizmadan bağımsız olarak gerçekleşmektedir. İkinci aşama metabolizmaya bağlı olup 24 saatte gerçekleşmekte, üçüncü aşama metabolizmaya bağlı yada bağlı olmadan 24 saatte gerçekleşmektedir.

Bağ et al. [35] çalışmalarında *Saccharomyces cerevisiae*'yı sepiolite immobilize ederek, kolon yöntemiyle bakır, çinko ve kadmiyumun zenginleştirme şartlarını araştırmışlardır. Bakır, çinko ve kadmiyumun geri kazanma verimlerini sırasıyla %98,3, %94,2 ve %99,04 olarak bulmuşlardır. Ayrıca adsorban kapasitesini de bakır için $74\mu\text{mol/g}$, çinko için $128\mu\text{mol/g}$ ve kadmiyum için $97\mu\text{mol/g}$ olduğunu belirtmişlerdir.

Basnakova et al. [36], çalışmalarında yüzeylerine hidrojen uranil fosfatın enzimler vasıtasıyla tutturulduğu *Citrobacter* N 14 hücrelerini seramik halkalar üzerine immobilize etmişlerdir. Mikroorganizma immobilize edilmiş halkaları kolonlara yerleştirmişlerdir, nikel iyonları içeren seyreltik çözeltileri kolonlardan geçirerek nikeli kantitatif düzeyde uzaklaştırmışlardır. Nikelin

tutulduğu kolonlar sitrat tamponu UO_2^- ve gliserol 2-fosfat içeren tampon kullanılarak rejenere edilmiştir.

Kuyucak and Volesky [37], çalışmalarında l algae hücreleri kullanarak kobaltın desorpsiyon şartlarını araştırmışlardır. Bu amaçla H_2SO_4 , HCl , NH_4OH , $KHCO_3$, EDTA, KSCN, KCl ve $CaCl_2$ özelteleri kullanılmıştır. Bu özeltiler içerisinden en iyi elue edici çözeltinin $CaCl_2$ olduğu belirtilmiştir. $CaCl_2$ özeltisi ile desorpsiyon veriminin %96 dan fazla olduğu belirtilmiştir.



3.MAYALAR ve İMMOBİLİZASYON YÖNTEMLERİ

3.1. Mayalar

Mayalar ökaryotik ve tek hücreli canlılar olup doğada çok yaygın bulunurlar. Toprakta, özellikle de şeker ve karbonhidrat bakımından zengin olan besin maddelerinde bulunurlar.

Maya hücreleri uzun, yuvarlak, elips ve yumurta şeklindedir. Hücre şekli türe, hatta bireylere göre değişebildiği gibi yetiştirme ve saklama koşulları ile de değişebilir. Maya hücrelerini morfolojik olarak ayırt etmek zor olmasına rağmen *Saccharomyces cerevisiae* genellikle yuvarlak veya eliptik bir şekil gösterir.

Maya hücreleri başlıca hücre duvarı, stoplazma ve çekirdek olmak üzere üç kısımdan oluşur.

Hücre duvarı hücreyi çevrelemiştir. Hücre duvarının hemen altında membran yer alır ve hücrenin besin maddelerini seçmesinde, besinlerin hücre içine, metabolizma ürünlerinin hücre dışına atılmasında önemli bir rol oynar.

Sitoplazma genç hücrelerde düzgün dağılmış olup saydam ve mavimsidir. İçerisinde, ribonükleik asit (RNA) ve protein içeren tanecikler olan ribozomlar bulunur. Bunlar, protein sentezini yaparlar. Sitoplazmada ayrıca hücre zarına yakın olarak yerleşmiş olan mitokondriler bulunur. Mitokondriler enzimce çok zengindir. %80 protein ve %20 yağdan oluşur. Bunlar, solunum ve enerji üretiminde görev alırlar.

Mayaların hücre duvarı, glukan, mannan, protein, kitin, fosfat ve lipit içerir. Glukan ve mannan, proteine bağlanmış olarak hücre duvarında bulunurlar ve mayaların topaklanmasını sağlarlar. Mannan aynı zamanda, metabolizmada yer alan fosfataz gibi önemli enzimlerin fosfor köprüsüyle hücre zarına bağlanmasını da sağlamaktadır.

Çekirdek, mayanın yaşamsal fonksiyonlarında önemli görevler yürütür. Maya hücrelerinin çekirdekleri genellikle yuvarlak olup, çapı 0,5-2 µm kadardır. Çekirdek deoksiribonükleik asit içerir [38].

3.1.1. *Saccharomyces cerevisiae*'nin özellikleri

Saccharomyces cerevisiae, ekmek yapımı, etil alkol üretimi ve genetik mühendisliğinde oldukça fazla kullanılan endüstriyel bir mikroorganizmadır. *Saccharomyces cerevisiae* mayasının karakteristik özellikleri aşağıda verilmiştir [39].

- I) Ökaryotik mikroorganizmadır.
- II) Besin kaynağı olarak glikoz, fruktoz, sukroz ve maltoz gibi şekerlerin yanında laktik, tartarik, süksinik, asetik asit ve etanolü kullanır. Bundan dolayı hetetrof bir mikroorganizmadır.
- III) Havalı ve havasız ortamda üreyebilirler.
- IV) Gelişmesi için en uygun sıcaklık 27-30 °C arasındadır.

3.2. Mayaların Gelişme Koşulları

Mikroorganizmaların gelişme ve üremesi için gerekli besinleri ve uygun koşulları içeren ortama besi ortamı denir. Mayaların gelişerek üreyebilmesi, maya için gerekli besin maddelerini ve enerji kaynağını içeren besi ortamının

oluşturulması, pH ve sıcaklık gibi koşulların maya için uygun olması gerekmektedir.

Mayaların gelişimi ve çoğalması için başta su olmak üzere karbonhidrat, azot ve madensel maddelere ihtiyaçları vardır. Hücrede bağlı olarak bulunan su, hücre zarının esnekliğini ve seçici geçirgenliğini sağlarken serbest halde bulunan maddelerin çözüner halde kalmasını ve aktarımını sağlar.

Hetetrof bir mikroorganizma olan mayalar karbon kaynağı olarak karbonhidratları kullanabilirler. Karbonlu maddelerin bir kısmı hücre yapımında, kalanı ise solunum ve fermentasyon için kullanılır.

Mayaların beslenmesinde azotlu maddelerin önemi çok fazladır. Azot kaynağı olarak amino asitler, proteinler, azot içeren çeşitli organik maddeler, havadaki azot, amonyum ve nitrat tuzları kullanılır.

Bunların dışında fosfor, kükürt, sodyum, kalsiyum, mağnezyum ve demir gibi elementler içeren maddelerinde az miktarda besi ortamına katılması gerekir. Bu gibi inorganik elementler enzimlerin aktifleşmesinde ve metaloenzimlerin bünyelerine girdiklerinden ötürü gelişme, üreme ve fermentasyonda önemli rol oynarlar.

Mayaların gelişme ve çoğalmaları genellikle 0-45 °C arasında olmaktadır. En uygun sıcaklık ise 20-30 °C arasında değişir. Yüksek sıcaklık zehirli metabolik artıkların artmasına neden olmaktadır. Ayrıca mayanın parçalanma yeteneğini artırır ve hücre bölünmesinin daha erken olmasını sağlayarak hücre yapısını bozar.

Mikroorganizmaların buldukları ortamdaki H^+ iyonu derişimi özellikle enzimlerin aktiviteleri için önemlidir. Her enzimin maksimum aktivite gösterdiği belli bir pH aralığı olmakla birlikte, mikroorganizmaların çoğunluğu pH 6-8 ve daha çok pH 7 civarında yaşarlar. Bununla beraber bazı maya ve mantarlar asidik ortamda, toprak bakterileri de bazik ortamda daha iyi ürerler. Mikroorganizmaların yaşadıkları ortamın pH'sının değişmemesi için genellikle $K_2HPO_4-KH_2PO_4$, $NaH_2PO_4-Na_2HPO_4$ tuzları kullanılarak uygun pH'da tampon hazırlanır [39].

3.3.Mayaların Metal Tutması

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

Mikroorganizmaların metalleri tutmasına “biyosorpsiyon” denir. Mikroorganizmaların metalleri biyosorpsiyon yoluyla tutması, çeşitli mekanizmalarla olur. Bunlardan başlıcaları, metallerin hücre duvarına adsorpsiyonu ile taşıma ve hücrenin salgıladığı metabolitlerle çöktürme gibi metabolizmaya bağlı mekanizmalardır. Her ne kadar hem canlı hem de ölü mikroorganizmalar metalleri tutma özelliğine sahip olsa da bunların metalleri tutuklama mekanizmaları farklıdır. Metabolizmaya bağlı olmadan, metallerin mayaların hücre duvarına tutunması genellikle hızlı ve yüksek kapasitede gerçekleşir. Ölü maya hücresinin biyosorpsiyon kapasitesi canlı hücreye göre

daha fazla olabilir. Ancak, maya hücrelerini öldürme tekniği biyosorpsiyon kapasitesini etkileyebilir. Biyosorpsiyonda genellikle karboksil, amin, fosfat, hidroksi ve sülfhidril grupları etkindir. Maya hücrelerinin kimyasal bileşimi farklı olduğu için farklı maya türlerinin adsorpsiyon kapasiteleri arasında önemli farklılıklar olabilir. Bir maya türü olan *Saccharomyces cerevisiae*'de metaller asidik ortamda amid grubundaki oksijene, bazik ortamda da NHCO grubuna bağlanır.

Mikroorganizmaların metalleri tutması iki şekilde olur:

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

Üç tür adsorpsiyon vardır. Bunlar:

- a) Değişirme adsorpsiyonu: Değişirme adsorpsiyonu, çekim kuvvetleri ile gerçekleşir. Genellikle metallerin hücredeki negatif yüklü ligantlara bağlanmasıyla olur.
 - b) Fiziksel adsorpsiyon: Bu tür adsorpsiyon Van der Waals kuvvetleri ile gerçekleşir. Adsorplanan metallerin hücre içine geçmesi ve içeride hareket etmesi mümkündür.
 - c) Kimyasal adsorpsiyon: Bu tür adsorpsiyonda, adsorplanan madde ile adsorban arasında kimyasal bir bağ oluşur.
-

II) Metabolizmaya bağlı olan metal tutması: Bu tür metal tutma, canlı mikroorganizmalarda metallerin hücre zarından hücre içine taşınması şeklinde gerçekleşen yavaş bir olay olup, sıcaklık ve canlılar için gerekli olan besin kaynaklarının yeterli olmamasından etkilenir. Toksiklik etkisi olduğu durumlarda, hücre zarının geçirgenliğinin artması nedeniyle metallerin hücre içine alınması difüzyonla olur. Bir çok canlı ya da ölü mikroorganizmada kurşun, uranyum ve toryum gibi metallerin tutunması yüzeye adsorplanma şeklinde olur. Difüzyon dışında metallerin hücre içine alınması nadiren olur. Hücrelerin büyümesi esnasında, besi ortamının kimyasal yapısındaki değişiklikler ve hücre tarafından salgılanan maddelerin metallerle kompleks veya çökelek oluşturması nedeniyle mikroorganizmaların metal tutma kapasitesi artabilir veya azalabilir [40].

Ölü ve canlı mikroorganizma immobilize edilerek metal tutuklanmasının avantaj ve dezavantajları Çizelge 3.1 de verilmiştir [41].

Biyosorpsiyonda kullanılan maya biyokütlesinin miktarı oldukça önemlidir. Metallerin tutulması biyokütle miktarına bağlı olup biyokütle miktarı artırıldığında tutulan metal miktarının azaldığı görülmüştür. Bu azalmanın nedeni, farklı bağlanma uçları arasında elektrostatik etkileşim olmasıdır. Maya hücrelerinin öğütülmesi bağlanma uçlarının sayısını artırdığı için, biyosorpsiyon kapasitesi artar. Çözeltinin pH'sı düşük olduğunda metal iyonlarının mikroorganizmaya taşınması yavaş olduğu için biyosorpsiyon hızı düşüktür. Maya hücrelerinin metal biyosorpsiyonu için optimum pH değeri genel olarak 4-5 arasında bulunmuştur [40].

Çizelge 3.1. Ölü ve Canlı Mikroorganizma İmmobilize Edilerek Metal Tutmanın Avantaj ve Dezavantajları [41]

Ölü Mikroorganizma İmmobilize Ederek Metal Tutma	
Avantaj	Dezavantaj
<ul style="list-style-type: none"> ◆ Mikroorganizma büyümesine bağlı değildir. Metallerin toksikliği önemsizdir. ◆ Metal tutulması hızlı ve verim yüksektir. Biyokütle bir iyon değiştirici gibi davranır. ◆ Biyokütle tutunan metaller kolaylıkla elue edilebilir ve geri kazanılabilir. 	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Metallerin bağlandıkları uçlar çok çabuk doygunluğa ulaşır. Tekrar kullanmak için tutulan metallerin elue edilmesi gerekir. ◆ Metallerin tutulması, pH ve metal türü gibi etkilere bağlıdır. ◆ Organometalik bileşikler oluşarak metabolik degradasyon gerçekleşmez. ◆ Metallerin bağlandığı uçların artışı mümkün değildir.

Canlı Mikroorganizma İmmobilize Ederek Metal Tutma	
Avantaj	Dezavantaj
<ul style="list-style-type: none"> ◆ Metallerin bağlandığı uçlar doygunluğa ulaşmaz. Uçlar dolduğunda, mikroorganizma yeni uçlar oluşturur. ◆ Metaller hücre içine alındığı için, metal tutması pH'nın değişmesinden etkilenmez. ◆ Metabolik aktivite sonucunda metallerin yükseltgenme basamaklarında değişimler olabilir. Ayrıca, organometalik bileşikler oluşur. 	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Toksiklik etkisi nedeniyle metal derişimlerinin belli bir düzeyde tutulması gerekir. ◆ Mikroorganizmanın fizyolojisine uygun şartlarda çalışmalıdır. ◆ Besin maddelerine gereksinim vardır. ◆ Ortama metabolik atıklar atılır. ◆ Ortama sindirilemeyen besin maddeleri atılır. ◆ Metaller hücre içerisine alındığı için geri kazanılması mümkün değildir.

3.4. İmmobilizasyon Yöntemleri

Mikroorganizmaların yüzeye tutunmaları, mikrobiyal ekoloji açısından önemli rol oynar. Yüzeyde hücrelerin büyümesi ile oluşturulan “biyofilmler”, mikroorganizmaların kullanıldığı endüstriyel işlemlerde oldukça yaygındır. Son yıllarda geliştirilen enzim immobilizasyonu teknikleri mikroorganizma immobilizasyonunda da kullanılmaya başlanmıştır. Böylece yüzeye tutunma şeklinde gerçekleştirilen mikroorganizma immobilizasyonu teknikleri yeni bir boyut kazanmıştır [42].

Hücrelerin fiziksel olarak katı bir destek içine hapsedilmesi veya katı yüzeyinin belirli yerlerine tutuklanmasına “mikroorganizma immobilizasyonu” denir. Mikroorganizma immobilizasyonunda üç etkin kısım vardır. Bunlar, mikroorganizma, katı veya jel destek ve immobilize mikroorganizmanın etrafını saran çözeltilerdir. Bu çözeltilerin kimyasal özelliği ana çözeltilinkinden oldukça farklı olup, “mikro-çevre” olarak adlandırılır. İmmobilize mikroorganizmalar karmaşık yapıda olmasına rağmen kolaylık sağlaması açısından küresel veya ince bir film olarak kabul edilmektedir.

Mikroorganizma immobilizasyonunda şu yöntemler kullanılmaktadır:

- I) Yüzeye immobilizasyon
- II) Gözenekli matriks içinde hapsedme
- III) Engel arkasında tutma

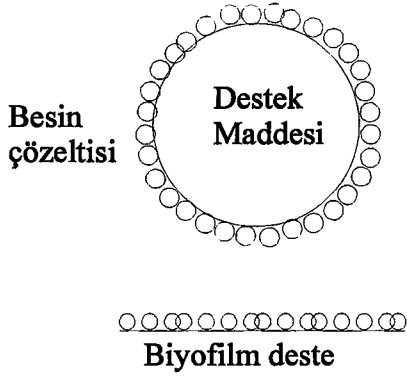
3.4.1. Yüzeye immobilizasyon

Bu metotta mikroorganizma yüzeye bağ yapmadan immobilize olur. Immobilize olan mikroorganizmalar tek tabaka halinde olup, tabaka kalınlığı yaklaşık 1 mm'dir. Mikroorganizma immobilizasyonu doğada yaygın olarak görülür. Buna verilecek en basit örnek, diş plakasındaki mikroorganizmalardır. En eski mikroorganizma immobilizasyonu yöntemi, asetik asit üretmek için odun parçalarına mikroorganizma immobilize edilmesidir. Mikroorganizmaların yüzeye immobilize olması Şekil 3.1' de gösterilmiştir.

Mikroorganizmaların yüzeye immobilizasyonu yöntemi, uygulaması kolay olduğu için oldukça yaygın kullanılmaktadır. Bu yöntemde mikroorganizmaların dayanıklılığı, mikroorganizmanın ve destek maddesinin türüne bağlıdır. Bu sistemde mikroorganizmalar ile çözelti arasında hiç bir engel tabakası yoktur. Ancak, destek üzerinde oluşan biyofilm tabakasının kalınlığını kontrol etmek oldukça zordur.

Destek yüzeyine mikroorganizma immobilizasyonu yöntemi sanayi alanında, özellikle atık suların arıtılması amacıyla, oldukça yaygın kullanılmaktadır. Genellikle karakterizasyonu yapılmamış mikroorganizmalar, kum veya taş yüzeylerinde biyofilmler oluşturmaktadır.

Hücreler, gluteraldehitte çapraz bağlama, silika jel silanizasyonu ve metal oksitlerine şelatlama ile kimyasal olarak da bağlanabilirler. Kovalent olarak bağlanan hücreler ve adsorpsiyon ile tutuklanan hücreler birbirine benzerdir.



Şekil 3.1. Mikroorganizmanın yüzeye immobilizasyonu

3.4.2. Gözenekli matriks içinde hapsedme

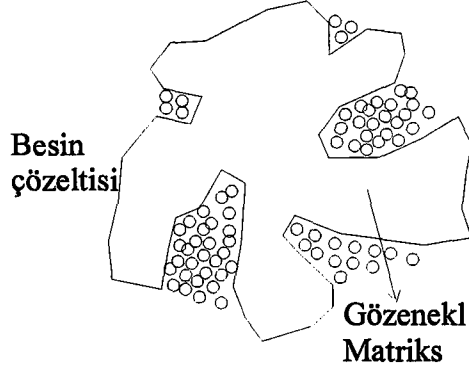
Gözenekli matriks içinde mikroorganizmaların hapsedilmesi iki şekilde olur:

I) Mikroorganizmalar, daha önceden yapılmış olan gözenekli bir matriks içine difüze edilir. Mikroorganizmalar büyümeye başlayınca, ortamdaki diğer mikroorganizmalar ve matriks tarafından hareketleri engellenir. Böylece, mikroorganizmalar matriks içine hapsedilmiş olur. Matriks, immobilize olmuş mikroorganizmaları dış ortamdaki etkilerden korur.

Mikroorganizmaların hapsedilmesinde bir çok matriks kullanılır. En çok kullanılan matriks türleri, gözenekli cam, briketler, volkanik kayalar ve çeşitli seramiklerdir.

II) Gözenekli matriks, mikroorganizmaların bulunduğu ortamda hazırlanırken mikroorganizmaları çevrelemesi sağlanır. En yaygın kullanılan yöntem, mikroorganizma etrafında polimerik madde sentezlenerek mikroorganizmanın hapsedilmesi yöntemidir. Ayrıca, mikroorganizmaların jel içinde hapsedilmesi yöntemi de kullanılmaktadır.

Gözenekli matriks içinde mikroorganizma hapsedilmesi Şekil 3.2’de gösterilmiştir.



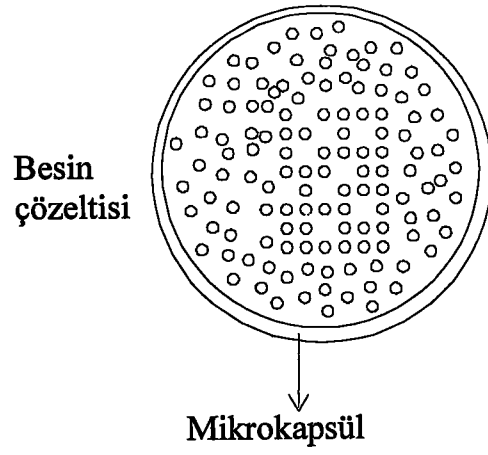
Şekil 3.2. Gözenekli matriks içinde mikroorganizma hapsedilmesi

Önceden hazırlanmış matrikslerin sıkıştırmaya dayanıklı olması ve mikroorganizmaların büyümesinde zararlı herhangi bir etkisinin bulunmaması, mikroorganizma ortamında hazırlanan matrikslere göre bazı avantajlar sağlar. Bunun yanında, önceden hazırlanmış matrikslerde yüksek yoğunlukta hücre oluşturulamaması bunlar için bir dezavantajdır.

3.4.3. Engel arkasında tutma

Bu yöntemde de önceden hazırlanmış engeller veya mikroorganizmanın bulunduğu ortamda hazırlanmış engeller yanında birbirleriyle karışmayan ve aralarında sıvı-sıvı temas yüzeyi oluşturan sıvılar da kullanılabilir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, yarı-geçirgen membranlar engel olarak kullanılmak suretiyle mikroorganizma immobilizasyonu yapılmıştır.

Engel arkasında mikroorganizma tutulması Şekil 3.3’de gösterilmiştir.



Şekil 3.3. Engel arkasında mikroorganizma tutuklanması

İmmobilize mikroorganizmaların, serbest mikroorganizmalara göre en büyük avantajı daha uzun süreli işleve sahip olmalarıdır.

4. DENEYSEL KISIM

4.1. Cihaz ve Malzemeler

4.1.1. Atomik absorpsiyon spektrofotometresi

Bu çalışmada GBC 933AA model alevli AAS kullanılmış olup çalışılan elementler için aletsel parametreler Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.Aletsel Parametreler

Element	Çalışılan dalga boyu (nm)	Lamba Akımı (mA)	Yarık Genişliği (nm)	Asetilen Akış Hızı L/dakika	Zemin Düzeltme (DL)
Cu	324,7	3,0	0,5	2	Var
Ni	232,0	4,0	0,2	2	Var
Zn	213,9	5,0	0,5	2	Var

Atomlaşma ortamı olarak hava/asetilen alevi, zemin absorpsiyonlarını düzeltmek için de döteryum lambası kullanılmıştır.

4.1.2. pH metre

Deneylerde çözeltilerin pH'sını ayarlamak için NEL marka 890 model dijital pH metre kullanılmıştır.

4.2. Reaktif Çözeltiler ve Hazırlanmaları

Deneyleerde analitik saflıkta reaktifler kullanıldı. Hazırlanan stok ve standart element çözeltileri polietilen şişelerde muhafaza edildi.

4.2.1. Stok bakır çözeltisi; 1000 µg/mL

1,965 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Riedel-deHaen), 10 mL 0,1M hidroklorik asitte çözülecek toplam hacim damıtık su ile 500 mL'ye tamamlandı.

4.2.2. Stok çinko çözeltisi; 1000 µg /mL

1,042 g ZnCl_2 (Merck), 10mL 0,1M hidroklorik asitte çözüldükten sonra toplam hacim damıtık su ile 500 mL'ye tamamlandı.

4.2.3. Stok nikel çözeltisi; 1000 µg /mL

2,041 g $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck), damıtık su ile çözülecek toplam hacim 500mL'ye tamamlandı.

4.2.4. Standart çözeltiler; 100 µg /mL

Madde 4.2.1, 4.2.2, 4.2.3'de bahsedilen stok çözeltilerden seyreltme yolu ile 100 µg/mL'lik standart çözeltiler hazırlandı.

4.2.5. Sodyum klorür çözeltisi; 1 M

5,844 g NaCl (Merck) damıtık su ile çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

4.2.6. Sodyum klorür çözeltisi; 0,5 M

2,922 g NaCl (Merck) damıtık su ile çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

4.2.7. Sodyum klorür çözeltisi; 0,1 M

0,584 g NaCl (Merck) damıtık su ile çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

4.2.8. Potasyum klorür çözeltisi; 1 M

7,456 g KCl (Merck) damıtık su ile çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

4.2.9. Potasyum klorür çözeltisi; 0,5M

3,728 g KCl (Merck) damıtık su ile çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

4.2.10. Potasyum klorür çözeltisi; 0,1 M

0,745 g KCl (Merck) damıtık su ile çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

4.2.11. Potasyum tiosiyanat çözeltisi; 0,1M

0,971 g KSCN (Merck) damıtık su ile çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

4.2.12. Amonyum klorür çözeltisi; 0,1M

0,534 g NH₄Cl (Merck) damıtık su ile çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

4.2.13. Sodyum karbonat çözeltisi; 0,1M

1,059 g Na₂CO₃ (Riedel-deHaen) damıtık su ile çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

4.2.14. Glisin, glisin hidroklorür tamponu; pH:2

5,42 g H₂NCH₂COOH (Merck) damıtık su ile çözülerek, 4,5 mL derişik HCl (Carlo Erba) çözeltisi ilave edildi. Toplam hacim damıtık su ile 500 mL'ye tamamlandı.

4.2.15. Asetik asit, sodyum asetat tamponu; pH:4

1,3 g $\text{NaCH}_3\text{COO}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Carlo Erba) damıtık suda çözülerek, 2,9 mL derişik asetik asit (BDH) ilave edildi. Toplam hacim damıtık su ile 500 mL'ye tamamlandı.

4.2.16. Sitrat tamponu; pH:6

10,5 g $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7\cdot\text{H}_2\text{O}$ (Merck) ve 5,33 g NaOH (Carlo Erba) damıtık suda çözülerek, toplam hacim damıtık su ile 500 mL'ye tamamlandı.

4.2.17. Fosfat tamponu; pH:6

6,8 g KH_2PO_4 (Carlo Erba) ve 1,08 g K_2HPO_4 (Carlo Erba) damıtık suda çözülerek toplam hacim 500 mL'ye tamamlandı.

4.2.18. Amonyak, amonyum klorür tamponu; pH:8

2,67 g amonyum klorür (Merck) damıtık suda çözülerek üzerine 0,2 mL amonyak çözeltisi (Merck) (%25'lik $d=0,91$ g/mL) ilave edildi. Toplam hacim 500 mL'ye tamamlandı.

4.2.19. Hidroklorik asit çözeltisi; 1M

%35'lik ($d= 1,18$ g/mL) hidroklorik asit (Carlo Erba) çözeltisinden 8,8 mL alınarak toplam hacim damıtık su ile 100 mL'ye tamamlandı.

4.2.20. Hidroklorik asit çözeltisi; 0,5M

%35'lik ($d=1,18$ g/mL) hidroklorik asit çözeltisinden 4,4 mL alınarak toplam hacim damıtık su ile 100 mL'ye tamamlandı.

4.2.21. Hidroklorik asit çözeltisi; 0,1M

%35'lik ($d=1,18$ g/mL) hidroklorik asit çözeltisinden 4,4 mL alınarak toplam hacim damıtık su ile 500 mL'ye tamamlandı

4.2.22. Kalibrasyon çözeltileri

Kalibrasyon çözeltileri, derişim ile absorbans arasındaki lineer ilişkinin sağlandığı bölgede, derişimleri Cu ve Ni için 1-3-5 $\mu\text{g/mL}$, Zn için 0,5-1-2,5 $\mu\text{g/mL}$ olacak şekilde standart çözeltilerin (Madde 4.2.4) seyreltilmesi ile analizlerin yapıldığı gün hazırlanmıştır.

4.2.23. Ponza taşı

Volkanik bir taş olan ponza taşı değişik isimlere sahip olup, bol gözenekli, köpük benzeri bir volkan camıdır. Çok eskiden beri çeşitli maddelerin ovalanarak parlatılmasında aşındırıcı olarak kullanılmaktadır.

Ponza taşı, yayılma anında tümüyle sıvı olan ve kristalleşmeye olanak kalmadan hızla soğuyan bir piroklastik korkayaçtır. Katılaştığında, içinde çözülmüş olan buharlar aniden dışarı çıkar ve tüm kütle bir köpük biçimini alarak hızla pekişir. Ponza taşıdaki boşluklar yuvarlak, uzun yada tablamsıdır. Bunların biçimi katılaştıran lavın akış düzenine bağlıdır.

Ponza taşının asidik ve bazik olarak iki türü vardır. Asidik ponzanın yoğunluğu $0,5-1 \text{ g/cm}^3$, bazik ponzanın ise yoğunluğu $1-2 \text{ g/cm}^3$ tür. Yapısının bol gözenekli olması nedeni ile ponzanın ısı ve ses geçirgenliği düşüktür. Bünyesinde kristal suyu yoktur.

Ponza taşı en çok inşaat alanında kullanılmaktadır. Ayrıca tekstil, kozmetik, boya sanayii ve tarımsal alanda da kullanılmaktadır. Ponzanın kimyasal bileşimi geniş sınırlar içerisinde değişmektedir. Ponza taşının kimyasal bileşimi Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Ponza taşı ilk olarak saf su ile yıkandı. Daha sonra $105 \text{ }^\circ\text{C}$ 'da kurutuldu ve sabit tartıma getirildi.

Çizelge 4.2 Ponza Taşının Kimyasal Bileşimi [43]

<u>Bileşen</u>	<u>Kütlece %</u>
SiO ₂	60 - 75
Al ₂ O ₃	13 - 15
Fe ₂ O ₃	1 - 4
Na ₂ O	2 - 5
K ₂ O	3 - 4
CaO	1 - 2
MgO	1 - 2
Ateşte kayıp	4 - 5

4.3. Mikroorganizmanın Hazırlanması

4.3.1. Katı ortam

Litresinde 3 g malt özü (malt extract), 3 g maya özü (yeast extract), 10 g glikoz, 5 g pepton ve 15 g agar içeren sulu çözeltiler hazırlanıp otoklavda 120⁰C'da 30 dakika sterilize edildikten sonra petri kaplarına döküldü ve katılaşmaya bırakılarak *Saccharomyces cerevisiae*'nin aşılacağı katı ortam hazırlandı. Hazırlanan katı ortama sterilize platin tel ile *Saccharomyces cerevisiae* aşılansak 30 ⁰C'luk bir ortamda büyüme bırakıldı. Katı ortamda büyüyen *Saccharomyces cerevisiae*'nin başka mikroorganizmalar tarafından kontamine olmaması, katı ortamda büyümesinin durdurulması ve uzun süre bozulmadan kalabilmesi amacıyla +4 ⁰C'da muhafaza edildi.

4.3.2. Sıvı ortam

0,9 g malt extract, 1,8 g yeast extract, 3 g glikoz, 1,5 g pepton, 1,05 g amonyum sülfat damıtık suda çözüldü. Fosfat tamponu kullanılarak ortamın pH'sı 6 değerine (Madde 4.2.17) tamponlandı. Toplam hacim damıtık su ile 300 mL'ye tamamlandı [24].

4.4. Mikroorganizmanın İmmobilizasyonu

Madde 4.3.2'de bahsedilen sıvı besi ortamı içerisine ponza taşı (yaklaşık 8 g) (Madde 4.2.23) bir tel yardımı ile askıda kalacak şekilde yerleştirildi. Besi ortamı ve ponza taşı birlikte otoklavda 120 ⁰C'da 30 dakika sterilize edildi. Daha sonra katı besi ortamında bulunan *Saccharomyces cerevisiae*'dan

(Madde 4.3.1.) sterilize platin tel ile aşılama yapıldı. Aşılammış besi ortamı 30 °C'da 100 rpm hızda çalkalamalı karıştırıcıda 15 saat bekletilerek *Saccharomyces cerevisiae*'nın ponza taşı yüzeyinde ve gözenekler içerisinde büyümesi sağlandı. Daha sonra maya immobilize edilmiş ponza taşı besi ortamından alınıp saf su ile yıkandıktan sonra %10'luk formaldehit çözeltisinde 30 dakika bekletildi. Böylece hem *Saccharomyces cerevisiae*'nin ölmesi hem de formaldehitin *Saccharomyces cerevisiae*'ya çapraz bağlanması sağlandı [44]. Ölü mikroorganizmalar 105 °C'da sabit tartıma gelinceye kadar kurutuldu. Ponza taşının orijinal gözenekli yapısının bozulmaması ve tekrar kullanımda kolaylık sağlaması için adsorpsiyon çalışmalarında taşlar bütün parçalar halinde kullanıldı.

4.5. Adsorpsiyon Çalışması

Adsorpsiyon çalışmaları kesikli (batch) yöntem ile yapıldı. Uygun tampon çözeltiler kullanılarak hazırlanan 250 mL'lik çözeltiler 500 mL'lik erlenlere alındı. Maya immobilize edilmiş ponza taşları bir tel yardımı ile askıda kalacak şekilde çözelti içerisine yerleştirildi. Erlenler çalkalamalı karıştırıcıda 100 rpm hızda 25 °C sabit sıcaklıkta bir saat karıştırıldı. Daha sonra çözeltiden numune alınarak 0,45 µm gözenekli süzgeç kağıdından süzüldü. Numunelerdeki metal iyonu AAS ile analiz edildi. Sonuçlar, mikroorganizma immobilize edilmiş ponza taşının 1 gramında adsorplanan metal miktarı hesaplanarak verildi. Ayrıca mikroorganizma immobilize edilmemiş ponza taşı ile mikroorganizma immobilize edilmiş ponza taşının adsorpsiyon özelliklerinin karşılaştırılmasına yönelik çalışmalar yapıldı.

4.6. Desorpsiyon Çalışması

Desorpsiyon çalışmaları da kesikli (batch) yöntem ile yapıldı. Farklı derişimlerde 100 mL'lik desorpsiyon çözeltileri hazırlandı. Adsorplanmış metal iyonlarının desorpsiyonu için HCl çözeltilerinin ve tuz çözeltilerinin etkileri araştırıldı. Desorpsiyon işlemi çalkalamalı karıştırıcıda 25 °C sabit sıcaklıkta, 100 rpm hızda bir saat süre ile karıştırılarak gerçekleştirildi. Desorpsiyon çözeltilerinden alınan numuneler 0,45 µm gözenekli süzgeç kağıdından süzüldü. Desorbe olmuş metal iyonu AAS ile analiz edildi.

4.7. Hesaplama Yöntemi

Adsorpsiyon çalışmalarının sonuçları 1 gram kuru adsorban başına adsorplanan metal miktarı olarak hesaplandı.

$$(\mu\text{g}) \text{ Adsorplanan metal miktarı} = \frac{A}{B} \quad (4.1.)$$

A: adsorplanan metal miktarı (µg)

B: Adsorban miktarı (g)

Desorpsiyon çalışmalarının sonuçları ise, geri kazanılan metal miktarının adsorplanan metal miktarına oranlanarak hesaplandı.

$$\% \text{Desorpsiyon} = \frac{\text{Desorpsiyon ortamına salınan metal miktarı } (\mu\text{g})}{\text{Adsorplanan metal miktarı } (\mu\text{g})} \times 100 \quad (4.2.)$$

4.8. AAS ile Analiz Yöntemi

AAS ile yapılan analizlerde kalibrasyon grafiklerinden faydalanılmıştır. Kalibrasyon işlemlerinde kullanılan kalibrasyon çözeltilerinin (Madde 4.2.22) matriksleri, adsorpsiyon ve desorpsiyon için kullanılan çözeltilerin matrikslerine benzetilmiştir. Hazırlanan bu çözeltiler kullanılarak her element için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir.

4.9. Deneyler

Çalışmada öncelikle, her element için maksimum adsorpsiyonun sağlandığı pH'lar belirlendi. Sonra, belirlenen optimum pH değerinde metal adsorpsiyonuna zamanın etkisi ve başlangıç derişiminin etkisi incelendi. Ayrıca desorpsiyon için uygun elue edici çözeltiler türü ve derişimi belirlendi.

4.9.1. pH'nın adsorpsiyona etkisi

Saccharomyces cerevisiae immobilize edilmiş ponza taşında, maksimum adsorpsiyonun sağlandığı pH aralığını bulmak amacıyla bakır, çinko ve nikel iyonları için derişimleri 3 µg/mL olan 250 mL hacminde bir seri çözeltiler hazırlandı. Çözeltilerin pH'ları tampon kullanılarak (Madde 4.2.14, Madde 4.2.15, Madde 4.2.16, Madde 4.2.18) 2-8 aralığına tamponlandı. Kullanılan tampon çözeltiler Çizelge 4.3'de verilmiştir. Çözeltiler 500 mL'lik erlenlere alındı, maya immobilize edilmiş ponza taşları bir tel yardımı ile askıda kalacak şekilde erlenlere yerleştirildi. Erlenler çalkalamalı karıştırıcıda 100 rpm hızda 25 °C sabit sıcaklıkta bir saat karıştırıldı. Daha sonra çözeltiden numune alınarak 0,45 µm gözenekli süzgeç kağıdından süzüldü. Numunelerdeki metal iyonu AAS ile analiz edildi.

Ayrıca, mikroorganizma immobilize edilmemiş ponza taşı ile mikroorganizma immobilize edilmiş ponza taşının adsorpsiyon özelliklerinin karşılaştırılması amacıyla yalnızca ponza taşı kullanılarak deneyler tekrarlandı.

Çizelge 4.3 Kullanılan Tampon Çözeltiler

pH Değerleri	2	4	6	8
Tampon Çözeltiler	Glisin Glisin- hidroklorür	Asetikasit Sodyum Asetat	Disodyum- Trisodyum Sitrat	Amonyak- Amonyum Klorür

4.9.2 Zamanın adsorpsiyona etkisi

Saccharomyces cerevisiae immobilize edilmiş ponza taşında, metal iyonlarının adsorpsiyonuna zamanın etkisini araştırmak amacıyla bakır, çinko ve nikel için başlangıç derşimi 3 µg/mL olan 250 mL hacminde çözeltiler, standart çözeltilerden (Madde 4.2.4) seyreltme yolu ile hazırlandı. Çözelti ortamı optimum pH olarak belirlenen (Madde 4.9.1) değere tamponlandı (Madde 4.2.16). Çözeltiler 500 mL'lik erlenlere alındı, maya immobilize edilmiş ponza taşları bir tel yardımı ile askıda kalacak şekilde yerleştirildi. Erlenler çalkalamalı karıştırıcıya yerleştirilerek 100 rpm hızda 25 °C sabit sıcaklıkta karıştırıldı. Belirli zaman aralıklarında (1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 45, 60.dakikalarda) çözeltiden numune alınarak 0,45 µm gözenekli süzgeç kağıdından süzüldü. Numunelerdeki metal iyonu AAS ile analiz edildi.

4.9.3. Başlangıç derişiminin adsorpsiyona etkisi

Saccharomyces cerevisiae immobilize edilmiş ponza taşında, metal iyonlarının adsorpsiyonuna başlangıç derişiminin etkisini araştırmak amacıyla, bakır, çinko ve nikel iyonları için derişimleri 10, 30, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650 µg/mL olan 250 mL hacminde çözeltiler hazırlanarak ortam pH 6 değerine tamponlandı (Madde 4.2.16). Çözeltiler 500 mL'lik erlenlere alındı, maya immobilize edilmiş ponza taşları bir tel yardımı ile askıda kalacak şekilde yerleştirildi. Erlenler çalkalamalı karıştırıcıya yerleştirilerek 100 rpm hızda 25 °C sabit sıcaklıkta bir saat karıştırıldı. Daha sonra çözeltiden numune alınarak 0,45 µm gözenekli süzgeç kağıdından süzüldü. Numunelerdeki metal iyonu AAS ile analiz edildi.

4.9.4. Desorpsiyon yöntemi

Adsorbanda tutunan metallerin geri alınması (desorpsiyon), adsorbannın tekrar tekrar kullanılabilmesi açısından önemlidir. Bu nedenle *Saccharomyces cerevisiae* immobilize edilmiş ponza taşında, adsorplanan metal iyonlarının desorpsiyon yöntemleri de araştırıldı. Literatürde genellikle geri kazanma işlemlerinin HCl, HNO₃ ve tuz çözeltileri ile yapıldığı belirtilmektedir [45-47]. Ancak *Saccharomyces cerevisiae* immobilize edilmiş ponza taşı pH 1 ve altındaki değerlerde oldukça parçalanmaktadır. Bu nedenle desorpsiyon için önerilen diğer çözeltiler araştırıldı. Karşılaştırma yapmak amacı ile hidroklorik asit çözeltisinin desorpsiyona etkisi de incelendi. Desorpsiyon işlemi asidik çözeltilerle yapıldığı için desorpsiyona ortamın pH'sının etkisi büyüktür. Tuz çözeltileri ile yapılan desorpsiyonda ortam pH 2 değerine tamponlanarak hem düşük bir pH değerinde çalışıldı hem de ponza taşının parçalanması önendi.

Desorpsiyon için KCl, NaCl, KSCN, NH₄Cl ve Na₂CO₃ çözeltileri kullanıldı. Bu amaçla derişimleri 0,1 M olan 100 mL hacmindeki pH değeri 2'ye tamponlanmış tuz çözeltileri içerisinde metal adsorplamış *Saccharomyces cerevisiae* immobilize edilmiş ponza taşı bir tel yardımı ile yerleştirildi. Na₂CO₃ bazik bir tuz olduğu için çalışmalarda bu çözelti için tampon kullanılmadı. Çalkalamalı karıştırıcıda 25 °C sabit sıcaklıkta 100 rpm hızda bir saat süre ile karıştırıldı. Çözeltiden alınan numuneler 0,45 µm gözenekli süzgeç kağıdından süzöldü ve çözeltideki metal iyonları AAS ile analiz edildi.

Çözelti derişiminin desorpsiyona etkisini belirlemek için en yüksek geri kazanmanın elde edildiğı KCl ve NaCl tuzlarının konsantrasyonları değıştirildi. Bu amaçla 0,5 ve 1 M'lık KCl ve NaCl çözeltileri kullanıldı. Sonuçlar madde 4.7'de verilen eşitlikle hesaplandı.

4.9.5 Tekrar kullanılabilirlik

Mikroorganizma immobilize edilmiş ponza taşının, adsorban olarak tekrar tekrar kullanılmasının elementlerin adsorpsiyonuna etkisi araştırıldı. Bu amaçla bakır, çinko ve nikel için derişimi 3 µg/mL olan 250 mL hacmindeki pH'sı 6 olan çözeltilerle adsorpsiyon işlemi, desorpsiyon işlemi de pH'sı 2 olan 1 M'lık KCl çözeltisi ile gerçekleştirildi. Her adsorpsiyon işlemi sonunda alınan numuneler 0,45 µm gözenekli süzgeç kağıdından süzölerek AAS ile analiz edildi.

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

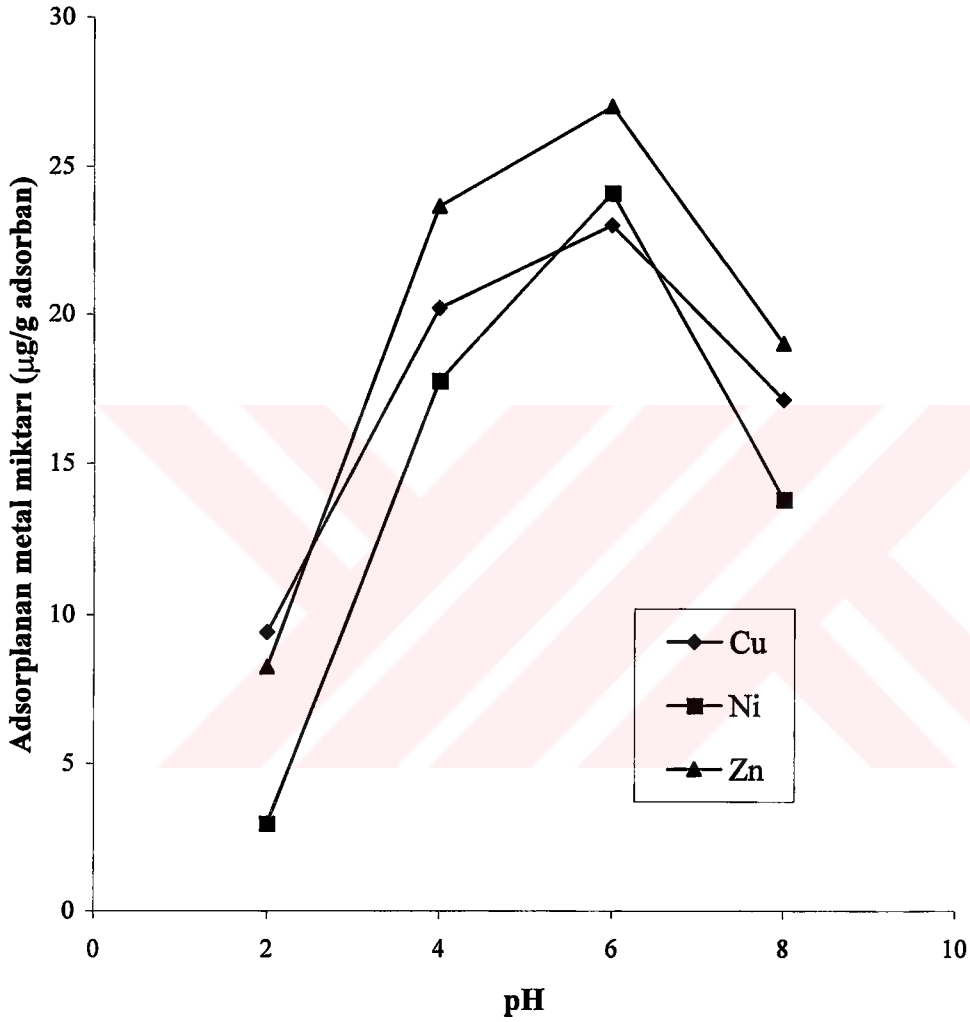
Bu çalışmada ponza taşına *Saccharomyces cerevisiae* immobilize edildi. Mayanın ponza taşına immobilize olup olmadığı, ponzanın immobilize işleminden önceki ve sonraki kütleleri arasındaki farktan anlaşıldı. Ayrıca maya immobilize olmuş ponza taşı ile maya immobilize olmamış ponza taşı arasındaki fark 0,1 M HCl çözeltisinin etkisiyle de gözlemlendi. Maya immobilize olmamış ponza taşı asidin etkisi ile kahverengi olmakta, ancak maya immobilize olmuş ponza taşı yüzeyin ve gözeneklerin maya ile kaplanması nedeniyle beyaz rengini muhafaza etmektedir. Elde edilen sonuçlar üç deneysel çalışmanın ortalaması olarak verilmiştir.

5.1. pH'nın Adsorpsiyona Etkisi

Saccharomyces cerevisiae immobilize edilmiş ponza taşına metal iyonlarının adsorpsiyonunun pH ile değişimi Şekil 5.1'de verilmiştir. Şekilden adsorplanan metal miktarının ortamın pH'sına bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Bu da literatür bilgilerine göre, metabolizmadan bağımsız olarak gerçekleşen biyosorpsiyonun, pH'nın bir fonksiyonu olduğunu göstermektedir [11]. Düşük pH değerlerinde metal iyonlarının adsorpsiyonu oldukça azdır. Bu değerlerde metal iyonlarının bağlandığı uçlar protonlar tarafından doldurulmaktadır [48]. Ortamın pH'sı arttıkça metal iyonlarının adsorpsiyonunda artmaktadır. Cu, Zn ve Ni iyonlarının adsorpsiyonu pH 4-6 aralığında maksimuma ulaşmaktadır. Bu değerler diğer çalışmalarla uyumludur [40].

Metaller hücre duvarındaki biyopolimerlerde bulunan fonksiyonel gruplara, protonlarla yer değiştirerek bağlanırlar. Karboksil ve sülfat gruplarına ise,

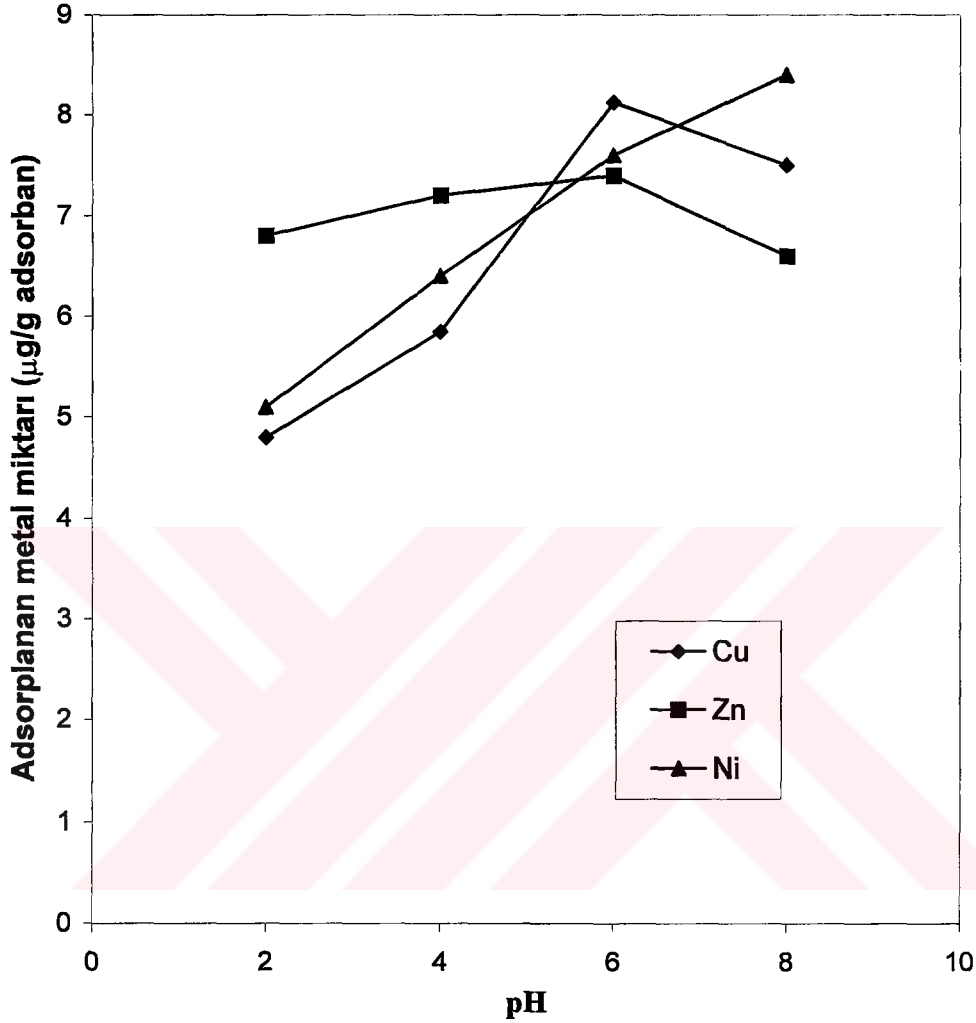
ortaklanmamış elektronlarla elektrostatik olarak bağlanırlar. Ortam bazikleştiğinde ise metal adsorpsiyonu azalmaktadır. Bazik ortamda iyonik ve iyonik olmayan hidroksit kompleksleri oluşması adsorpsiyonun azalmasına neden olmaktadır [49].



Şekil 5.1 Mikroorganizma immobilize edilmiş ponza taşında metal adsorpsiyonuna çözelti pH'sının etkisi

Mikroorganizma immobilize edilmemiş ponza taşına metal iyonlarının adsorpsiyonunun pH ile değişimi Şekil 5.2'de verilmiştir. Mikroorganizma

immobilize edilmiş ponza taşının adsorpsiyon özelliği ile ponza taşının tek başına kullanıldığındaki adsorpsiyon özelliğinin farklı olduğu görülmektedir.



Şekil 5.2. Mikroorganizma immobilize edilmemiş ponza taşında metal adsorpsiyonuna çözelti pH'sının etkisi

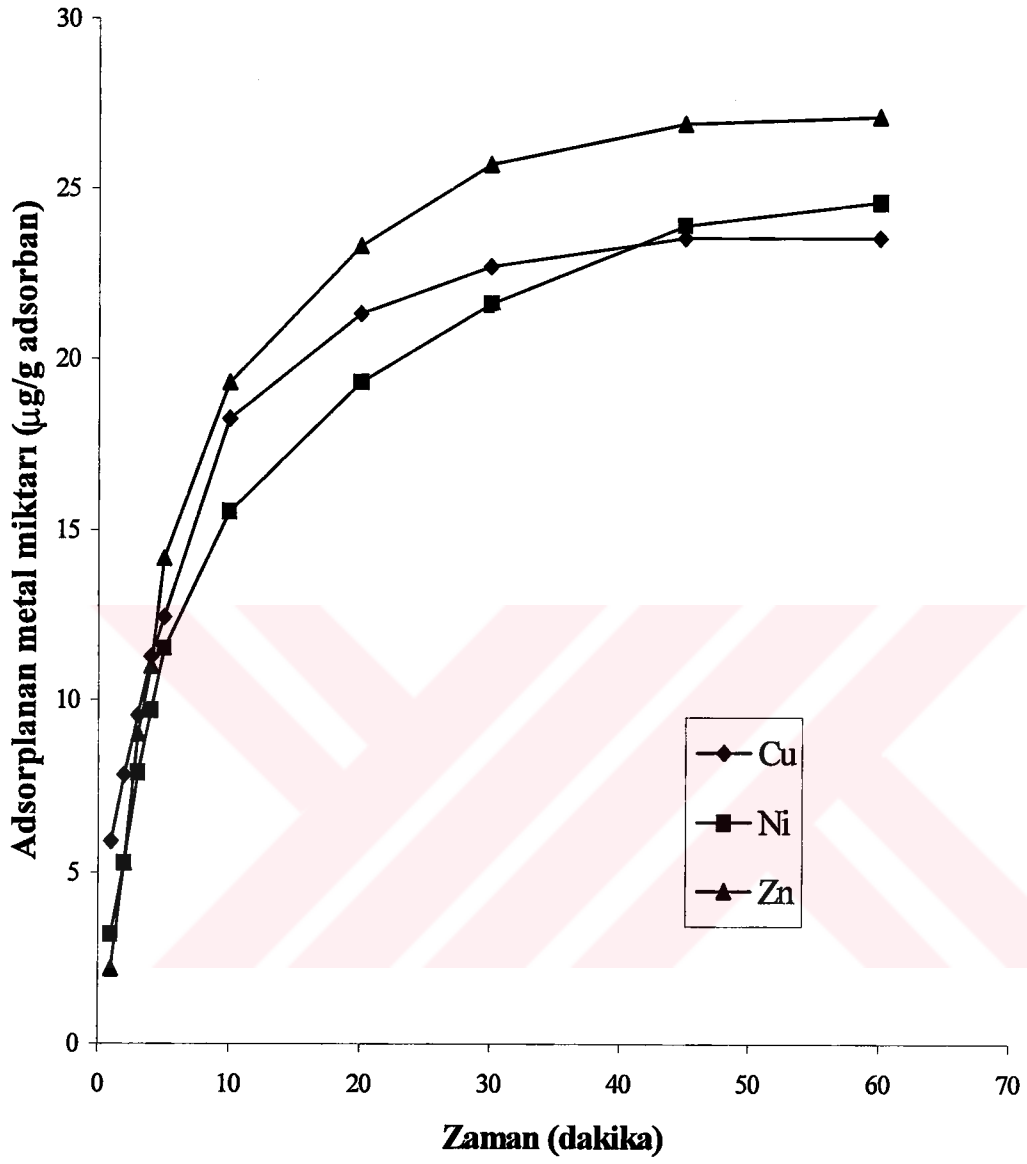
5.2 Zamanın Adsorpsiyona Etkisi

Saccharomyces cerevisiae immobilize edilmiş ponza taşına metal iyonlarının adsorpsiyonuna zamanın etkisi Şekil 5.3'de görülmektedir. Bir saatlik adsorpsiyon süresi sonunda her üç iyonun da maksimum adsorpsiyon değerine ulaştığı gözlenmiştir. Her üç metal iyonunun büyük bir kısmının ilk 20

dakikada adsorpsiyonu tamamlanmaktadır. Bakır iyonlarının adsorpsiyonu 30 dakikada maksimum değere ulaşmıştır. Nikel ve çinko iyonlarının adsorpsiyonu ise 45 dakikada maksimum değere ulaşmıştır. Elde edilen sonuçlar, metabolizmadan bağımsız biyosorpsiyonun hızlı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir.

Rhizopus arrhizus'un gözenekli poliüretan köpük üzerine immobilize ederek, bakır iyonlarının sulu çözeltilerden uzaklaştırıldığı bir çalışmada [20] bakır iyonlarının büyük bir kısmının mikroorganizmalar tarafından ilk 10 dakikada adsorplandığını, ilk 20 dakikada ise adsorpsiyonun tamamlandığını belirtmişlerdir. Diğer bir çalışmada [50] ise krom iyonlarının *Thiobacillus ferrooxidans*'a biyosorpsiyonunun 15 dakika da tamamlandığı belirtilmiştir.

Escheria coli ve *Pseudomonas putida* ile yapılan bir çalışmada [51] ise, maksimum altın biyosorpsiyonu *Escheria coli* ile 10 dakikada, *Pseudomonas putida* ile 15-20 dakika aralığında hızlı bir şekilde tamamlandığı belirtilmiştir.



Şekil 5.3 Zamanın adsorpsiyona etkisi

5.3. Başlangıç Derişiminin Adsorpsiyona Etkisi

Saccharomycess cerevisiae immobilize edilmiş ponza taşına metal iyonlarının adsorpsiyonuna, metal iyonlarının başlangıç derişimlerinin etkisi Şekil 5.4’de görülmektedir. Başlangıç derişiminin etkisi ile metal iyonu adsorpsiyonu belirli bir değere kadar artmaktadır. Bakır iyonlarının adsorpsiyonun 550µg/mL, çinko iyonlarının adsorpsiyonunun 400 µg/mL, nikel iyonlarının adsorpsiyonunun ise 450 µg/mL başlangıç derişiminden sonra sabit kaldığı gözlenmiştir. Bu başlangıç derişimlerinde adsorplanan maksimum bakır iyonu miktarı 3,18 mg/g adsorban, maksimum çinko iyonu miktarı 2,09 mg/g adsorban, maksimum nikel iyonu miktarı ise 2,24 mg/g adsorban olarak bulunmuştur. Bakır, çinko ve nikel iyonlarının *Saccharomycess cerevisiae* immobilize edilmiş ponza taşına adsorblanmalarına ilişkin Freundlich ve Langmuir izotermleri Şekil 5.5 ve Şekil 5.6’da verilmiştir. İzotermlerle ilgili parametreler Çizelge 5.1’de verilmiştir.

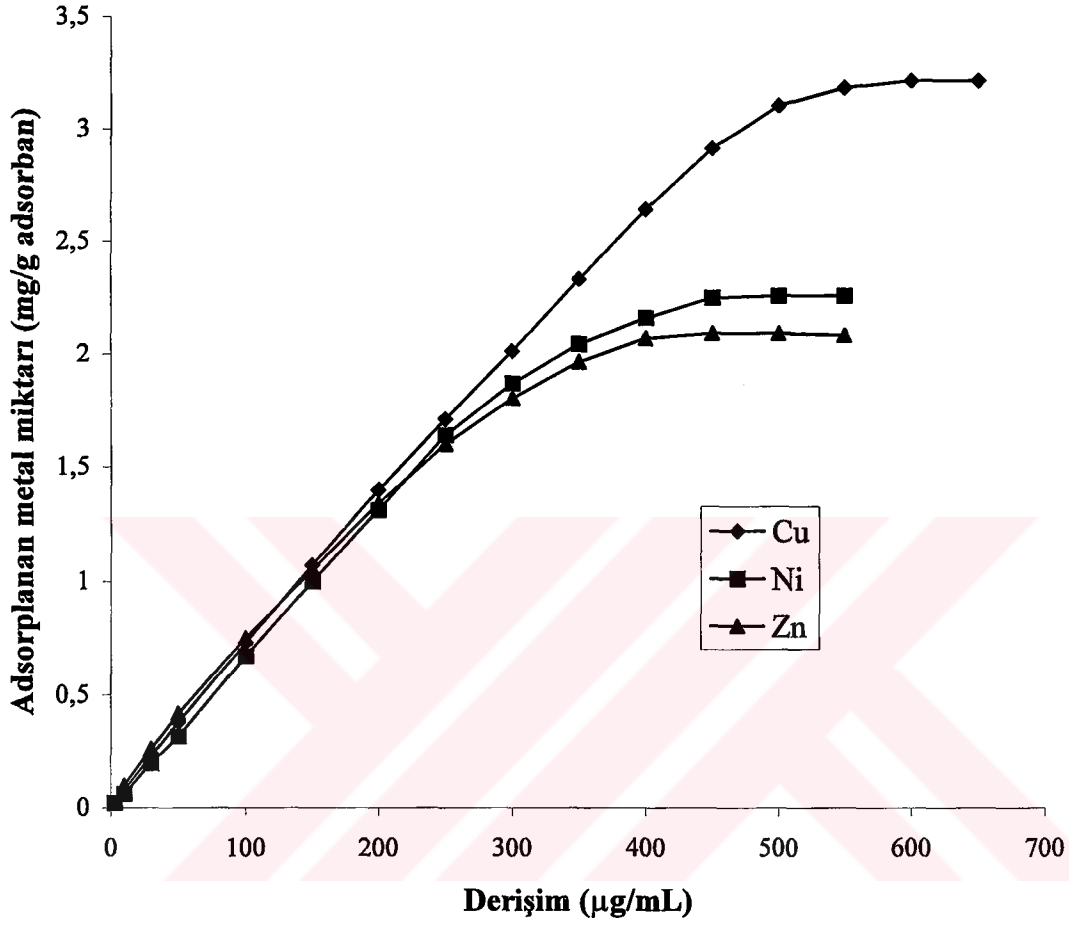
Adsorpsiyon izotermlerinde görüldüğü gibi metal iyonlarının adsorpsiyonu konsantrasyonun bir fonksiyonu olarak gerçekleşmiştir. Freundlich izotermi lineer korelasyon katsayısı (Çizelge 5.1), Langmuir izotermi korelasyon katsayısından daha yüksektir. Metal adsorpsiyonu, Langmuir izoterm yaklaşımından daha çok, adsorbe olacak madde konsantrasyonuna bağlı olarak değişen Freundlich izoterm yaklaşımına uymaktadır.

Rhizopus arrhizus’un gözenekli poliüretan köpük üzerine immobilize ederek, bakır iyonlarının sulu çözeltilerden uzaklaştırıldığı bir çalışmada [52] bakır iyonlarının biyosorpsiyonunun Freundlich izoterm yaklaşımına daha uygun olduğu belirtilmiştir.

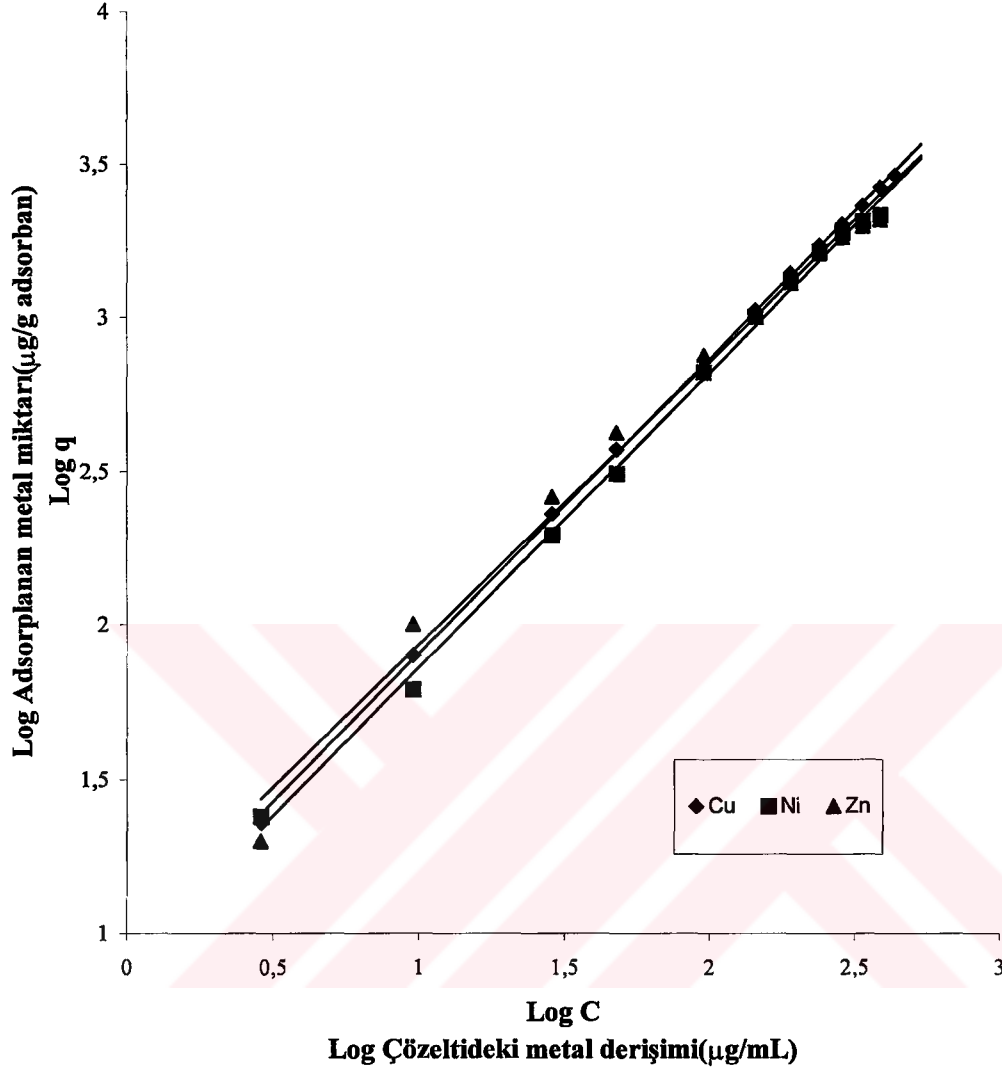
Mikroorganizmaların adsorpsiyon kapasiteleri, mikroorganizmanın türüne, metal türüne, mikroorganizmanın canlı veya ölü olmasına, öldürme yöntemine, serbest veya immobilize olmasına, immobilizasyon yöntemine, öğütülmesine, kullanılan destek maddesine, çözelti ortamında bulunan yabancı iyonlara ve organik maddelere bağlı olarak değişir [20,27,40,53].

Saccharomyces cerevisiae'nin farklı destek maddesine immobilize edilerek yapılan çalışmada [5] bakır ve çinko için adsorpsiyon kapasiteleri sırasıyla 56 ve 180 $\mu\text{mol/g}$ olarak bulunmuştur. Diğer bir çalışmada ise [35] bakır ve çinko iyonları için adsorpsiyon kapasiteleri sırasıyla 74 $\mu\text{mol/g}$, 128 $\mu\text{mol/g}$ olarak elde edilmiştir.

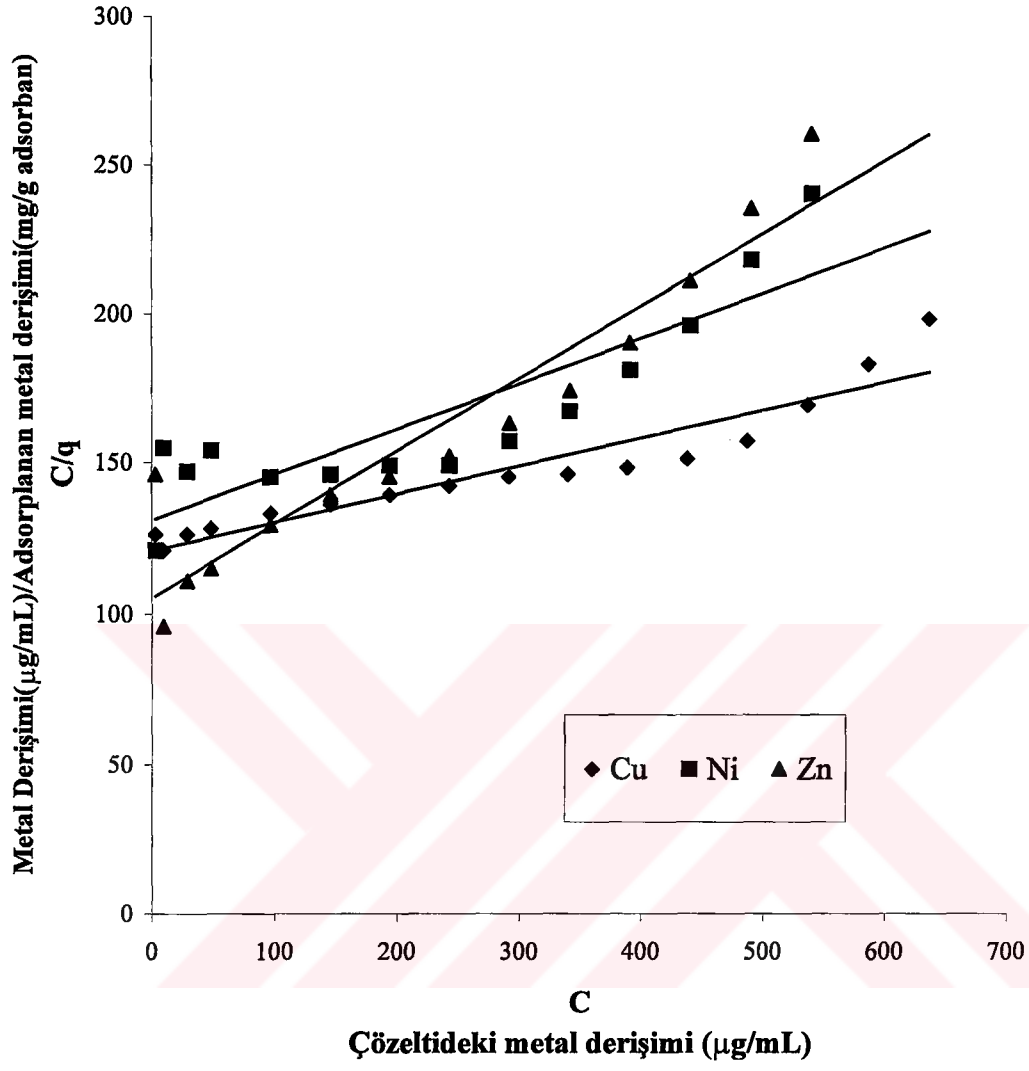
Bu çalışmada aynı mikroorganizmanın farklı destek maddesine immobilizasyonu ile yapılan çalışmalara göre adsorpsiyon kapasitesinin azaldığı gözlenmiştir. Bunun nedeni immobilizasyon yönteminin ve kullanılan destek maddesinin farklı olmasından kaynaklanabileceği gibi, mikroorganizmanın öldürülmesinde kullanılan formaldehitin mikroorganizmaya çapraz bağlanması sonucu metal tutma kapasitesinin azalması da söz konusu olabilir.



Şekil 5.4. Başlangıç Derişiminin Adsorpsiyona Etkisi



Şekil 5.5. Freundlich İzotermi



Şekil 5.6. Langmuir İzotermi

Çizelge 5.1.Langmuir ve Freundlich Adsorpsiyon İzoterm Parametreleri

Metal	Langmuir izotermi			Freundlich izotermi		
	b (mg/g)	K	Korelasyon katsayısı	k (µg/g)	n	Korelasyon katsayısı
Bakır	10,72	$7,73 \cdot 10^{-4}$	0,888	8,88	1,04	0,994
Çinko	4,11	$2,31 \cdot 10^{-3}$	0,895	10,36	1,08	0,989
Nikel	6,59	$1,16 \cdot 10^{-3}$	0,770	8,02	1,04	0,997

5.4 Desorpsiyon

Desorpsiyon yönteminde en temel unsur adsorplanan maddenin maksimum oranda geri kazanılmasıdır. Bunun nedeni geri kazanılan madde ya çok kıymetlidir ya da adsorban maddenin tekrar kullanılabilir olmasını sağlamaktır. Bir çok çalışmada mikroorganizmalar tarafından adsorplanmış bakır, çinko, nikel gibi bazı iyonların geri kazanılması HCl çözeltileri ile sağlanmıştır. Ancak bu çalışmada destek maddesi olarak kullanılan ponza taşı pH 1 ve 1'in altındaki değerlerde oldukça parçalanmaktadır. Bunu önlemek ve yüksek desorpsiyon verimi sağlamak için desorpsiyon çalışmaları pH 2 değerinde yürütüldü. Derişimi 0,1 M olan tuz çözeltileri ile elde edilen geri kazanma veriminin düşük olduğu görüldü. 0,1M'lık KCl ve NaCl çözeltileri ile her üç element için en yüksek geri kazanma elde edilmiştir. Diğer çözeltilerin geri kazanma verimleri ise düşüktür.

Tuz çözeltilerinin konsantrasyonlarının desorpsiyona etkisi Çizelge 5.2'de görülmektedir. Çözeltilerin derişimi arttıkça desorpsiyon da artmıştır. 1M KCl çözeltisi ile metal iyonlarının desorpsiyonları bakır, çinko ve nikel için

sırasıyla %89 - %90 - %87 olarak belirlendi. Bu sonuçlar 1M HCl çözeltisi ile elde edilen desorpsiyon değerlerine oldukça yakındır.

Çizelge 5.2 Desorpsiyona Elue Edici Çözelti Türü ve Derişiminin Etkisi

Desorpsiyon çözeltisinin türü	Derişim (mol/L)	%Desorpsiyon		
		Cu	Zn	Ni
HCl	0,1	85	88	89
	0,5	91	91	94
	1,0	96	93	99
KCl*	0,1	85	86	82
	0,5	87	88	85
	1,0	89	90	87
NaCl*	0,1	80	81	73
	0,5	84	84	76
	1,0	85	85	77
KSCN*	0,1	74	78	66
NH ₄ Cl*	0,1	72	79	56
Na ₂ CO ₃ **	0,1	56	42	40

* pH = 2

** Tampon çözelti kullanılmadı

Saccharomyces cerevisiae'nin farklı destek maddesine immobilize edilerek yapılan zenginleştirme çalışmalarında demir ve nikel iyonları 1M HCl çözeltisi ile sırası ile %95 ve %99 oranlarında geri kazanılmıştır [32].

5.5. Tekrar Kullanılabilirlik

Mikroorganizma immobilize edilmiş ponza taşının, adsorban olarak tekrar tekrar kullanılmasının elementlerin adsorpsiyonuna etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, beş kez adsorpsiyon ve desorpsiyon işlemi tekrarlandı. Beş adsorpsiyon desorpsiyon işlemi sonunda, adsorplanan metal miktarının hemen hemen sabit kaldığı görüldü. Elde edilen sonuçlar Çizelge 5.3'de görülmektedir. Çalkalamalı karıştırıcıda yapılan karıştırma işlemi sırasında, ponza taşının içerisinde bulunduğu erlene çarpması sonucu yıpranması daha fazla adsorpsiyon-desorpsiyon işlemi yapılmasını sınırlamaktadır. Deneylerin kesikli (batch) yöntem yerine kolon yöntemi ile yapılması, mikroorganizma immobilize edilmiş ponza taşının daha fazla tekrar tekrar kullanılabilmesini sağlayacaktır.

Çizelge 5.3. Tekrar Kullanılabilirlik

Kullanım Sayısı	Adsorplanan Metal Miktarı (µg/g adsorban)		
	Cu	Zn	Ni
1	22,3	27,3	24,1
2	22,1	26,6	23,5
3	21,6	26,6	23,1
4	21,3	26,1	22,8
5	20,9	24,8	22,4

SONUÇLAR

1. Cu, Zn ve Ni iyonlarının *Saccharomyces cerevisiae* immobilize edilmiş ponza taşına maksimum adsorpsiyonunun pH 6'da gerçekleştiği gözlemlendi.
2. Cu, Zn ve Ni iyonlarının *Saccharomyces cerevisiae* immobilize edilmiş ponza taşına adsorpsiyonunun ilk 20 dakikada hızlı bir şekilde gerçekleştiği, 45 dakikada dengeye ulaştığı gözlemlendi.
3. Cu, Zn ve Ni iyonlarının *Saccharomyces cerevisiae* immobilize edilmiş ponza taşına adsorpsiyonunun, başlangıç derişimine bağılı olarak arttığı ve Cu, Zn ve Ni iyonlarının maksimum adsorpsiyon miktarlarının sırasıyla, 3,18 mg/g adsorban, 2,09 mg/g adsorban ve 2,24 mg/g adsorban olduğu bulundu.
4. Cu, Zn ve Ni iyonlarının *Saccharomyces cerevisiae* immobilize edilmiş ponza taşına adsorpsiyonunun, Freundlich izoterm yaklaşımına uyduğu gözlemlendi.
5. Adsorplanan metal iyonlarının desorpsiyonu 1 M KCl çözeltisi (pH 2) ile Cu, Zn ve Ni için sırasıyla % 89, %90 ve % 87 oranlarında olduğu görüldü.
6. *Saccharomyces cerevisiae* immobilize edilmiş ponza taşının tekrar kullanımı amacıyla, beş kez adsorpsiyon ve desorpsiyon işlemi tekrarlandı. Beş adsorpsiyon desorpsiyon işlemi sonunda, adsorplanan metal miktarlarının hemen hemen sabit kaldığı görüldü.

KAYNAKLAR

- 1- Somer, G., Türker, A.R., Erdoğan, B., Tunçeli, A., Altınok, H., “Türkiyede Ağır Metal Kirliliklerinin Ölçülmesi” Çevre Bakanlığı Projesi, 88K100080, Ankara, (1989)
 - 2- Drake L.R.,and Rayson G.D., “Plant-Derived Materials for Metal Ion-Selective Binding and Preconcentration”, Analytical Chemistry, 68, 22A, (1996)
 - 3- Mahan, C.A. and Holcombe, J.A., “Immobilization of Algae Cells on Silica Gel and Their Characterization for Trace Metal Preconcentration”, Analytical Chemistry,64,1933, (1992)
 - 4- Elmahadi, H.A.M. Greanway, G.M., “Immobilized Algae as a Reagent for Preconcentration in Trace Element Atomic Absorbtion Spectrometry”, J. Anal. At. Spectrom., 6, 643, (1991)
 - 5- Maquieria, A., Elmahadi, H.A.M., and Puchades, R., “Use of *Saccharomyces cerevisiae* in Flow Injection Atomic Absorption Spectrometry for Trace Metal Preconcentration”, Anal. Chem.,66,1462, (1994a)
 - 6- Maquieria, A., Elmahadi, H.A.M. and Puchades, R., “Thecnique and Support for Microorganism Immobilization. Application to Trace Metals Enrichment by Flow Injection Atomic Absorption Spectrometry”, Analyst, 121, 1633, (1996)
 - 7- Bağ, H., Lale, M. and Türker, A. R., “Mikroorganizma İmmobilize Edilmiş Sepiolitte Bazı Eser Elementlerin Zenginleştirme Şartlarının Araştırılması ve AAS ile Tayinleri”, XI. Kimya Kongresi, Van, (1997)
 - 8- Mahan, C.A. and Holcombe, J.A., “Preconcentration of Trace Metals Using Silica-Immobilized Algae Cells in a Chromatographic Seperation Procedure”, Spectrochimica Acta, 47B, 1483, (1992)
-

- 9- Tsezos, M. and Volesky, B., "The Mechanism of Uranium Biosorption by *Rhizopus arrhizus*", *Biotechnology and Bioengineering*, 24, 385, (1982)
 - 10-Kuyucak, N. and Volesky, B., "Biosorbent for Recovery of Metals From Industrial Solutions", *Biotechnology Letters*, 10,137, (1988)
 - 11-Madrid, Y. and Camara, C., "Biological Substrates for Metal Preconcentration and Speciation", *Trends in Anal. Chem.*, 16,36, (1997)
 - 12-Aksu, Z. and Kutsal, T., "Bioseparation Process for Removing Lead(II) Ions From Waste Water by Using *C. vulgaris*", *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 52,109, (1991)
 - 13-Tsezos M., Bairdand H.I. and Shemilt, L.W., "The Kinetics of Radium Biosorption", *The Chem. Engineering Journal*, 33, B35, (1986)
 - 14-Aksu, Z. ve Kutsal, T., "Atıksulardaki Ağır Metal İyonlarının Giderilmesinde Mikroorganizmaların Kullanılması", *Çevre Dergisi*, 2, 5, (1986)
 - 15-Türk Standartları, İçme Suları (TS266) Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, sayfa 2, (1984)
 - 16-Tsezos, M. and Volesky, B., "Biosorption of Uranium and Thorium", *Biotechnology and Bioengineering*, 23, 583, (1981)
 - 17-Garnham, G. W., Codd, G. A., and Gadd, G., M., "Accumulation of Cobalt, Zinc and Manganese by Estuarine Green Microalga *Chlorella salina* Immobilized in Alginate Microbeads", *Environ. Sci. Technol.*, 26, 1764, (1992)
 - 18-Mahan, C.A., Majidi, V. and Holcombe, J.A., "Evaluation of the Metal Uptake of Several Algae Strains in a Multicomponent Matrix Utilizing Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry", *Anal. Chem.*, 61, 624, (1989)
 - 19-Castellan, W.G., *Physical chemistry*, Third edition, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California
-

- 20-İleri, R., Sümer, B. ve Şengörür, B., “Atıksulardaki Bakır (II) İyonlarının Biyosorpsiyon ile Uzaklaştırılması”, Çevre Dergisi, 11,16, (1994)
- 21-Mowll, J.L. and Gadd, G.M., “Cadmium Uptake by *Aureo basidium pullulans*”, J. of General Microbiology 130, 279, (1984)
- 22-Suh, H. J., Yun, W. J. and Kim, S. D., “Comparison of Pb²⁺ Accumulation Characteristics Between Live and Dead Cells of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aureobasidium pullulans*”, Biotechnology Letters, 20, 247, (1998)
- 23-Greene, B., Hosea M., Pherson., R. M., Henzl, M., Alexander, M. D. And Darnall, D. W., “Interaction of Gold(I) and Gold(III) Complexes with Algal Biomass”, Environ. Sci. Technol., 20, 627, (1986)
- 24-Asan, G. ve Lale, M., “MYGP Ortamında *Saccharomyces cerevisiae*’dan Etanol Üretimi”, II. Uluslararası Kızıllırmak Fen Bilimleri Kongresi, Kim., 279, Kırıkkale, (1998)
- 25-Madrid, Y., Cabrera, C., Corona, T. P., and Camara, C., “Speciation of Methylmercury and Hg(II) Using *Saccharomyces cerevisiae*, Determination by Continious Flow Mercury Cold Vapor Generation Atomic Absorption Spectrometry”, Anal. Chem., 67, 750, (1995)
- 26-Boyer, A., Magnin, J.P. and Ozil, P., “Copper Ion Removal by *Thiobacillus ferroxidans* Biomass”, Biothecnology Letters, 20, 187, (1998)
- 27-Mahan, C.A. and Holcombe, J.A., “Immobilization of Algae Cells on Silica Gel and Their Characterization for Trace Metal Preconcentration”, Anal. Chem., 64, 1933, (1992)
- 28-Galun, M., Keller, P. and Malki, D., “Removal of Uranium(VI) From Solution by Fungal Biomass and Fungal Wall-Related Biopolymers”, Science, 219, 286, (1982)
- 29-İleri, R., Mavituna, F., Parkinson, M. and Türker, M., “Repeated Use of Immobilised Dead *Rhizopus arrhizus* for the Removal of Heavy Metal Contaminants from Wastewater”, Proc. APBioChEC, 22-25, 564, Korea, (1990)

- 30-İleri, R., Sümer, B. ve Şengörür, B., “Atıksulardaki Ağır Metal İyonlarının Tutulmuş Ölü *Rhizopus arrhizus* ile Biyosorpsiyonu”, Türk Devletleri 2. İlmi İşb. Konf. Kazakistan, (1993)
- 31-Yang, J. and Volesky, B., “Cadmium Biosorption Rate in Protonated *Sargassum* Biomass”, Environ. Sci. Technol., 33, 751, (1999)
- 32-Bag, H., Lale, M. and Türker, A. R., “Determination of Iron and Nickel by Flame Atomic Absorbtion Spectrophotometry After Preconcentration on *Saccharomyces cerevisiae* Immobilized Sepiolite”, Talanta, 47, 689, (1998)
- 33-You, M.K. and Park, K.Y., “Cd²⁺ Removal by *Azomonas agilis* PY101, a Cadmium Accumulating Strain in Continuous Aerobic Culture”, Biotechnology Letters, 20, 1157, (1998)
- 34-Suh, H.J., Kim, S.D. and Yun, W.J., “Process of Pb²⁺ Accumulation in *Saccharomyces cerevisiae*”, Biotechnology Letters, 20, 153, (1998)
- 35-Bag, H., Lale, M. and Türker, A. R., “Determination of Cu, Zn and Cd in Water by FAAS After Precocentration by Baker’s Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) Immobilized on Sepiolite”, Fresenius J. Anal. Chem., 363, 224, (1999)
- 36-Basnakova, G.,Finlay, J.A. and Macaskie, L.E., “Nickel Accumulation by Immobilized Biofilm of *Citrobacter* sp. Containing Cell-Bound Polycrystalline Hydrogen Uranyl Phospate”, Biotechnology Letters, 20, 949, (1998)
- 37-Kuyucak, N. and Volesky B., “Desorption of Cobalt – Laden Algal Biosorbent”, Biotechnology and Bioengineering, 33,815, (1989)
- 38-Pamir, M.H., “Fermentasyon Mikrobiyolojisi”, A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın no:936, A.Ü. Basım Evi, Ankara, (1985)
- 39-Asan, G., “MYGP Ortamında *Saccharomyces Cerevisiae*’dan Etanol Üretimi”, Kırıkkale, Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, (1997)
-

- 40-Rehm, H.J. and Reed, G., *Biotechnology*, 6b, Special Microbial Processes, VCH, Weinheim, Germany, (1988)
- 41-Mizrahi, A., "Biological Waste Treatment, Advances in Biotechnological Processes", Vol.12, Alan R. Liss Inc., New York, (1989)
- 42-Karel, S.F., Libicki, S.B., and Robertson, C.R., "The Immobilization of Whole Cells", *Engineering Principles, Chem. Eng. Sci.*, 40, 1321, (1985)
- 43-Bruce Mc Michael, Ponza Pazarı, M.T.A. Genel Müdürlüğü Fizibilite Etüdüleri Dairesi, Ankara, (1991)
- 44-Zhao, M., and Duncan, J.R., "Column sorption of Cr(VI) from Electroplating Effluent Using Formaldehyde Cross-Linked *Saccharomyces cerevisiae*", *Biotechnology Letters*, 20, 603, (1998)
- 45-Tsezos, M., Baird, M.H.I. and Shemilt, L.W., "The Elution of Radium Adsorbed by Microbial Biomass", *The Chem. Engineering Journal*, 34, B57, (1987)
- 46-Nakajima, A. and Sakaguchi, T., "Selective Accumulation of Heavy Metals by Microorganisms", *App. Microbiology and Biotechnology*, 24, 59, (1986)
- 47-Tsezos, M., "Recovery of Uranium from Biological Adsorbents-Desorption Equilibrium", *Biotechnology and Bioengineering*, 26, 973, (1984)
- 48-Elmahadi, H.A.M. Greanway, G.M., "Immobilized Algae as a Reagent for Preconcentration in Trace Element Atomic Absorption Spectrometry", *J. Anal. At. Spectrom.*, 6, 643, (1991)
- 49-Robles, L. C. and Aller, A.J., "Preconcentration of Berillium on the Outer Membrane of *Esherichia coli* and *Pseudomonas putida* Prior to Determination by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry", *J. Anal. At. Spectrom.*, 9, 871, (1994)
-

- 50-Baillet, F., Magnin, J.P., Cheruy, A. and Ozil, P., "Chromium Precipitation by the Acidophilic Bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*", *Biotechnology Letters*, 20,95, (1998)
- 51-Robles, C. L., Garcia-Olalla, C. and Aller, A.J., "Determination of Gold by Slurry Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry After Preconcentration by *Escheria Coli and Pseudomonas Putida*", *J. Anal. Atom. Spect.* 8,1015, (1993)
- 52-İleri, R., Sümer, B. ve Şengörür, B., "Biyosorpsiyon Kinetiği ve İzotermelerinin Araştırılması", *Çevre Dergisi*, 7, 39, (1993)
- 53-Shengjun, M. and Holcombe, J.A., "Preconcentration of Copper on Algae and Determination by Slurry Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry", *Anal. Chem.* 62, 1994, (1990)

ÖZGEÇMİŞ

1974 yılında Yozgat'ın Köseyusuflu Köyünde doğdu. 1985 yılında ilkokulu, 1988 yılında ortaokulu ve 1992 yılında liseyi bitirdi. 1997 yılında Selçuk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nden mezun oldu. Aynı yıl Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Yüksek Lisans eğitimine başladı. 31.12.1997 Tarihinde Kırıkkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümüne araştırma görevlisi olarak atandı. Halen Kırıkkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.

