

**KROMUN TOPRAK YÜZEYİNE ADSORPSİYONUNA
PSEUDOMONAS BAKTERİLERİNDEN İZOLE
EDİLEN EKZOPOLİMERİK MADDENİN (EPS)
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

HİLAL DEMİRAY

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ
ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MERSİN

MAYIS-2008

**KROMUN TOPRAK YÜZEYİNE ADSORPSİYONUNA *PSEUDOMONAS*
BAKTERİLERİNDEN İZOLE EDİLEN EKZOPOLİMERİK
MADDENİN (EPS) ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

HİLAL DEMİRAY

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ
ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. ÇETİN KANTAR

MERSİN

Mayıs-2008

Bu tezin gerek bilimsel içerik, gerekse elde edilen sonuçlar açısından tüm gerekleri sağladığı kanaatine ulaşan ve aşağıda imzaları bulunan biz jüri üyeleri, sunulan tezi oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul ediyoruz.

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Çetin KANTAR



Jüri Üyesi

Doç. Dr. Nurcan KÖLELİ



Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Cüneyt GÜLER



Bu tezin Fen Bilimleri Enstitüsü yazım kurallarına uygun olarak yazıldığı Enstitü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mahir TURHAN
Enstitü Müdürü

NOT: Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

ÖZ

Topraktan Cr(VI) gideriminde, biyoremediasyon teknolojileri yaygın olarak kullanılmaktadır. Mikrobiyal olarak Cr(VI) indirgenmesinde, mikroorganizmalar toksik etkisi olan Cr(VI)'yı Cr(III)'e dönüştürürken ortama ekzopolimerik madde yayarak EPS-Cr(III) komplekslerinin oluşmasına neden olur. Fakat oluşan bu kompleks yapının, kromun topraktaki taşınımını nasıl etkileyeceği göz ardı edilen bir konu olmuştur. Bunun için, *Pseudomonas aeruginosa* P16 ve *Pseudomonas putida* P18 suşlarından izole edilen EPS'lerin kromla olan etkileşimi araştırılarak, literatürdeki bu boşluk doldurulmaya çalışılmıştır. Çalışmanın birinci aşamasında EPS karakterizasyonu yapılarak EPS'nin ana bileşenleri tespit edilmiştir. İyon değişimi ve potansiyometrik titrasyon deneylerinden elde edilen sonuçların modellenmesi sonucunda *P. aeruginosa* P16 ve *P. putida* P18 bakterilerinden izole edilen EPS'lerde bulunan özellikle fosforik ve karboksilik gruplarının krom ile kompleks oluşturmada büyük rol üstlendikleri saptanmıştır.

Kesikli adsorpsiyon testleriyle de EPS'nin düşük pH' larda krom adsorpsiyonu üzerine herhangi bir etkisi olmadığı, pH 6 ve üstündeki pH' larda krom adsorpsiyonunu azalttığı bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: krom; ekzopolimerik madde; kompleks oluşumu; adsorpsiyon; *Pseudomonas* bakteri

ABSTRACT

Microbial bioremediation technologies are commonly used to treat soils contaminated with chromium. Microbial techniques involve bioreduction of a toxic form of chromium [Cr(VI)] to a non-toxic form [Cr(III)]. During microbial Cr(VI) reduction, bacteria may release exopolymeric substances (EPS) when exposed to high concentrations of Cr(VI). The EPS released into solution may then complex with Cr(III), and thereby change its solution speciation. However, it is not clear to what extent Cr(III) complexation with EPS may affect the stability and mobility of chromium in the subsurface since the information on the mechanisms of formation of such Cr-EPS complexes are scarce in the literature. In this study, laboratory ion exchange and sorption experiments were performed to: 1) characterize the major components of exopolymeric substances (EPS) extracted from *P. aerogenisa* P16 and *P. putida* P18 characterize, and 2) investigate the influence of exopolymeric substances (EPS) extracted from *P. aerogenisa* P16 and *P. putida* P18 on Cr(III) binding with heterogeneous surface soils. The analysis of ion exchange data shows that Cr(III) strongly binds with the carboxylic and phosphate groups of EPS molecules leading to the formation of a 1:1 Cr: EPS complex for P18 EPS and 1:2 Cr: EPS complex for P 16 EPS, respectively.

Batch sorption experiments show that while bacterial EPSs had no impact on Cr(III) sorption to soils at pHs < 6, they led to a decrease in Cr (III) sorption under alkaline conditions indicating that EPS may impact Cr mobility in subsurface systems.

Key words: chromium; exopolymeric substance; complexation; adsorption; *Pseudomonas* bacteria

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam boyunca sağladığı bilimsel katkıları ve sabrı ile her zaman yanımda olan danışmanım Yrd. Doç. Dr. Çetin KANTAR' a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans tezimi yürütürken gerekli bilgi altyapısını oluşturmama aldığım derslerle katkı sağlayan Prof. Dr. Fatih KÖLELİ' ye, Prof. Dr. Fadime TANER' e, Doç. Dr. Nurcan KÖLELİ'ye, Doç. Dr. Fevzi ÖNER'e ve Yrd. Doç. Cüneyt GÜLER' e özellikle teşekkür ederim.

Çevre Mühendisliği Bölüm Başkanı Prof. Dr. Halil KUMBUR' a, Çevre Mühendisliği Bölüm Sekreteri Tuğba KESKİN'e, Fen Bilimleri Enstitüsü Sekreteri Nazmiye GÖKÇEL'e, Uzman Özgül KAYA'ya ve Erdoğan TÜRKER' e teşekkür ederim.

Çalışmamda kullandığım EPS'leri üreten Doç. Dr. Nazime ERCAN'a, EPS karakterizasyon deneyleri sırasında toplam protein ve şeker tayini için gerekli kimyasalları ve bilgiyi veren Yrd. Doç. Dr. Ali ÜNYAYAR'a, Yrd. Doç. Dr. Mehmet Ali MAZMANCI'ya, Emrah Ahmet ERKURT'a ve Arş. Gör. Ece Ümmü DEVECİ' ye teşekkür ederim.

ICP-MS analizleri için Prof. Dr. Musa ALPARSLAN'a teşekkür ederim.

BAP ve TUBİTAK'a, BAP-FEB ÇM(HD) 2008-2YL ve TUBİTAK 105 Y 272 no'lu projeler kapsamındaki desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Manevi desteklerinden dolayı arkadaşlarıma, eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyen aileme en içten dileklerimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
ÇİZELGELER DİZİNİ	XI
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
2.1. KROM	5
2.1.1. Kromun Özellikleri	5
2.1.2. Kromun Kullanım Alanları ve Krom Kimyasalları Üretimi	6
2.1.3. Kromun Topraktaki Kaynağı ve Önemi	8
2.1.4. Krom Toksisitesi	9
2.2. TOPRAK	10
2.2.1. Toprak İnorganik Maddesi	12
2.2.2. Toprak Organik Maddesi	13
2.3. KROMUN TOPRAKTAKİ KİMYASI	13
2.3.1. Yüze Çökelme Prosesi	15
2.3.2. Yükün Sıfır Olduğu Nokta	16
2.3.3. İyon Değişimi Prosesi	18

2.3.4. Yükseltgenme-İndirgenme Prosesi Prosesi.....	18
2.4. ADSORPSİYON.....	21
2.4.1. Topraktaki İnorganik Maddelerinin Adsorpsiyon Prosesindeki Yeri ..	22
2.4.1.1. Topraktaki inorganik maddelerin yüzey fonksiyonel grupları ve mineral tipleri	22
2.4.2. Topraktaki Organik Maddelerinin Adsorpsiyon Prosesindeki Yeri.....	26
2.4.2.1. Topraktaki organik maddelerin fonksiyonel gruplar ve yük karakteristikleri.....	26
2.4.3. Yüzey Kompleksleri.....	27
2.4.3.1. Toprak organik maddesi ve inorganik maddesi arasındaki kompleks oluşumu.....	29
2.4.3.2. Toprak organik maddesi ile metal iyonu arasındaki kompleks oluşumu.....	30
2.5. EKZOPOLİMERİK MADDE (EPS).....	31
2.5.1. Karbon/Azot Varlığının EPS Biyosentezine Etkisi.....	33
2.5.2. Ortam pH'sının EPS Biyosentezine Etkisi.....	34
2.5.3. Ortam Sıcaklığının EPS Biyosentezine Etkisi	34
2.5.4. Büyüme Fazı	35
2.5.5. Ortamdaki Toksik Kimyasalların EPS Biyosentezine Etkisi	35
2.6. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	37
3. MATERYAL VE METOT.....	44
3.1. MATERYAL	44

3.1.1. Araştırmada Kullanılan Malzemeler	44
3.1.1.1. Toprak örneği	44
3.1.1.2. Ekzopolimerik madde	44
3.1.1.3. Krom(III) tuzu	44
3.1.1.4. İyon değiştirici reçine	44
3.1.2. Araştırmada Kullanılan Cihazlar	45
3.1.2.1. UV-Visible spektrofotometre	45
3.1.2.2. ICP-MS	45
3.2. METOT	45
3.2.1. Araştırmada Kullanılan Toprağın Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi	45
3.2.1.1. Nem	45
3.2.1.2. Suya Doygunluk (Saturasyon)	46
3.2.1.3. Toplam Tuz	46
3.2.1.4. Toprak Reaksiyonu	46
3.2.1.5. Kireç (CaCO ₃)	46
3.2.1.6. Organik Madde	46
3.2.1.7. Toplam Karbon	47
3.2.1.8. Alınabilir Fosfor	47
3.2.1.9. Alınabilir Potasyum	47
3.2.1.10. Katyon Değiştirme Kapasitesi (KDK)	47
3.2.1.11. Toplam Cr Analizi	47

3.2.1.12. Cr (VI) Analizi	48
3.2.1.13. Suda Çözünebilir Cr (VI) Analizi	48
3.2.1.14. Spesifik Yüzey Alanı	48
3.2.1.15. Tekstür (Bünye).....	48
3.2.1.16. Geçirgenlik Analizi	49
3.2.1.17. Kimyasal Bileşenlerinin Belirlenmesi.....	49
3.2.2. EPS Saflaştırma.....	49
3.2.3. EPS Karakterizasyonu.....	50
3.2.3.1. Toplam Şeker Miktarının Belirlenmesi.....	50
3.2.3.2. Toplam Protein Miktarının Belirlenmesi	50
3.2.3.3. Toplam Uronik Asit Miktarının Belirlenmesi.....	51
3.2.3.4. Toplam PO ₄ -P Miktarının Belirlenmesi.....	51
3.2.4. Potansiyometrik Titrasyon Deneyleri.....	51
3.2.5. İyon Değişimi Deneyleri	52
3.2.6. EPS-Cr(III) Kompleks Oluşumu Modellemesi.....	53
3.2.7. Kesikli Adsorpsiyon Deneyleri	57
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	59
4.1. TOPRAK ÖRNEĞİNİN BAZI FİZİKSEL VE KİMYASAL ÖZELLİKLER	59
4.2. EPS KARAKTERİZASYONU DENEY SONUÇLARI	62
4.3. REÇİNE-Cr(III) İZOTERM DENEY SONUÇLARININ MODELLENMESİ	63

4.4. EPS POTANSİYOMETRİK TİTRASYON EĞRİLERİNİN SİMULASYONU.....	67
4.5. EPS-Cr(III) KOMPLEKS OLUŞUMUNUN AYRI LİGAND MODELİ İLE MODELLENMESİ.....	73
4.6. KESİKLİ ADSORPSİYON DENEYİ SONUÇLARI.....	77
4.6.1. Cr(III)'ün pH'a Bağlı Olarak Toprağa Adsorpsiyonu.....	77
4.6.2. <i>P. aeruginosa</i> P16 Bakterisinden İzole Edilen EPS'nin pH'a Bağlı Olarak Toprağa Adsorpsiyonu	79
4.6.3. Cr(III)'ün <i>P. aeruginosa</i> P16 Bakterisinden İzole Edilen EPS Varlığında, pH'a Bağlı Olarak Toprağa Adsorpsiyonu.....	80
4.6.4. <i>P. aeruginosa</i> P16 Bakterisinden İzole Edilen Farklı Konsantrasyonlardaki EPS'nin, pH'a Bağlı Cr(III) Adsorpsiyonuna Etkisi.....	81
4.6.5. Cr(III)'ün <i>P. putida</i> P18 Bakterisinden İzole Edilen EPS Varlığında, pH'ya Bağlı Olarak Toprağa Adsorpsiyonu.....	82
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	84
5.1. SONUÇLAR	84
5.2. ÖNERİLER	85
KAYNAKLAR	87
ÖZGEÇMİŞ	95

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL	SAYFA
Şekil 1.1. Toprakta krom mobilizasyonuna/immobilizasyonuna etki eden prosesler	3
Şekil 2.1. Krom kimyasalları üretiminin Eh-pH diyagramı	7
Şekil 2.2. Kromun biyolojik sistemlerde temel kullanımının Eh-pH diyagramı	8
Şekil 2.3. Sucul çevrede inorganik kroma ve organo-Cr komplekslerine etki eden prosesler	14
Şekil 2.4. Oksit üzerine metal iyonu sorpsiyonu.....	16
Şekil 2.5. Kromun yükseltgenme-indirgenme dengesi	19
Şekil 2.6. Mineral-su arafazında bir iyonun çeşitli sorpsiyon mekanizmaları	21
Şekil 2.7. Yüzey hidroksil gruplarının bazı türleri.....	24
Şekil 2.8. 2:1 Kil mineralleri-metal inner-outer sphere kompleksleşmesi	28
Şekil 2.9. EPS içeriğinde bulunan uronik asit, şeker, protein ve lipopolisakkarit yapıları.....	32
Şekil 2.10. <i>P. aeruginosa</i> P16 hücrelerine ait transmisyon elektron mikroskopu (TEM) görüntüsü.....	36
Şekil 2.11. <i>P. putida</i> P18 hücrelerine ait transmisyon elektron mikroskopu (TEM) görüntüsü.....	36
Şekil 4.1. Toprak XRD spektrumu.....	61

Şekil 4.2. EPS türlerinin toplam şeker, protein, uronik asit ve toplam fosfor içeriklerinin dağılımları	63
Şekil 4.3. İyon değişimi izotermi	66
Şekil 4.4. EPS'lerin 0.01 ve 0.1 M NaCl çözeltisinde titrasyonu	68
Şekil 4.5. EPS fonksiyonel gruplarının pK_a değerlerine göre dağılımı.....	72
Şekil 4.6. EPS/Cr iyon değişimi deney sonuçları	74
Şekil 4.7. Cr(III)-fosfat iyonu muhtemel kompleks yapısı	76
Şekil 4.8. Cr(III)- karboksil iyonu muhtemel kompleks yapısı.....	76
Şekil 4.9. Cr(III)'ün pH'a bağlı olarak toprağa adsorpsiyonu	78
Şekil 4.10. <i>P. aeruginosa</i> P16 bakterisinden izole edilen EPS'nin pH'a bağlı olarak toprağa adsorpsiyonu.....	79
Şekil 4.11. Cr(III)'ün 50 ppm <i>P. aeruginosa</i> P16 bakterisinden izole edilen EPS varlığında, pH'a bağlı olarak toprağa adsorpsiyonu	80
Şekil 4.12. Farklı EPS konsantrasyonlarının Cr(III) adsorpsiyonuna etkisi	81
Şekil 4.13. Cr(III)'ün 50 ppm <i>P. putida</i> P18 bakterisinden izole edilen EPS varlığında, pH'ya bağlı olarak toprağa adsorpsiyonu	82

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE	SAYFA
Çizelge 2.1. Krom türlerinin kanserojenik etki sınıflandırması	10
Çizelge 2.2. Topraklarda bulunan elementlerin aralıkları ve ortalamaları.....	11
Çizelge 2.3. Toprakta bulunan bazı birincil ve ikincil mineraller.....	12
Çizelge 2.4. Bazı minerallere ait pH-PZC değerleri	17
Çizelge 2.5. Yüzey hidroksil gruplarının yoğunluğu	25
Çizelge 2.6. pH'a bağlı olarak organik maddelerin ve kil fraksiyonlarının toprak katyon değişim kapasitesine katkıları	27
Çizelge 2.7. pH ve iyonik güce bağlı olarak montmorilinit-Pb adsorpsiyon kompleks tipleri.....	29
Çizelge 4.1. Toprak örneğine ait bazı parametreler	59
Çizelge 4.2. Toprak örneğine ait bazı kimyasal parametreler.....	60
Çizelge 4.3. <i>P. aeruginosa</i> P16 ve <i>P. putida</i> P18 kültürlerinden izole edilen EPS'lerin bazı özellikleri.....	62
Çizelge 4.4. Su fazı Cr(III) hidroliz reaksiyonları ve bu reaksiyonlara ait oluşum denge sabitleri.....	64
Çizelge 4.5. EPS asit/baz reaksiyonları.....	69
Çizelge 4.6. EPS/Cr kompleks oluşum reaksiyonları ve belirlenen oluşum denge sabitleri.....	77

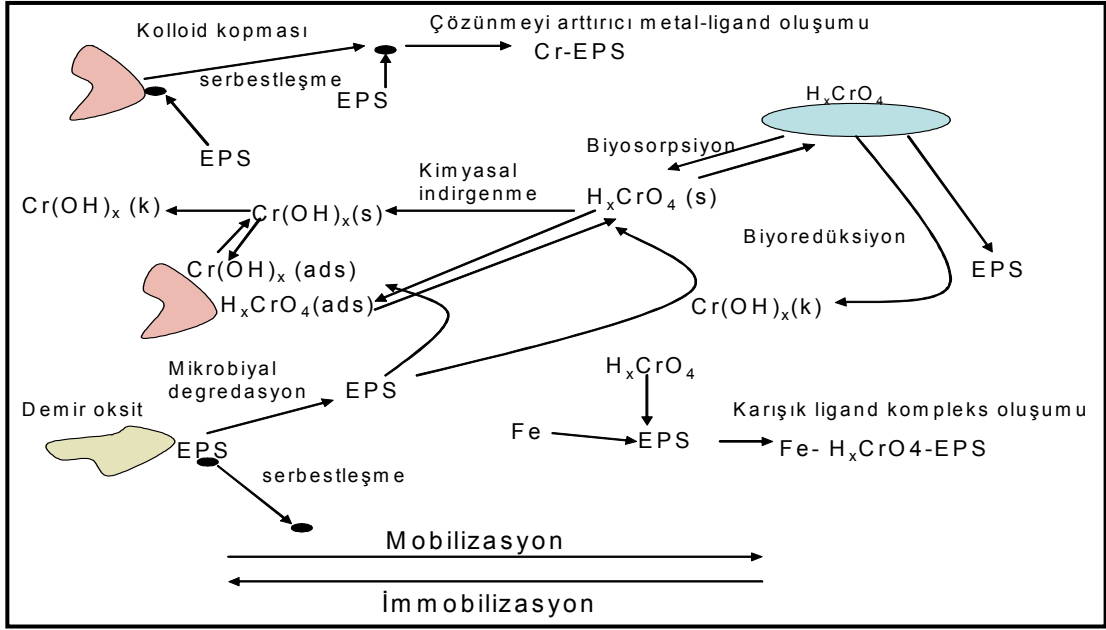
1. GİRİŞ

Mersin ilinde, içme ve sulama suyu kaynakları arasında yeraltı suları büyük önem taşımaktadır. Ancak yeraltı su kaynakları ve tarım toprakları doğal ve endüstriyel yollardan kaynaklanan büyük bir krom kirliliği tehdidi altındadır. Krom, metal ve kromatlar şeklinde bulunan ve çok geniş ölçüde korozyon önleyici uygulamalarda, daha az miktarlarda ise vernik, mürekkep ve boya maddeleri üretiminde kullanılan bir metaldir. Serpantin içeren topraklarda yüksek konsantrasyonlarda bulunur [1]. Mersin ilinin kuzeyinde yer alan serpantinlerde, özellikle Mersin-Fındıkpınarı civarında, krom madeni olduğu ve madene yakın topraklarda ve yeraltı sularında krom kirliliğinin olduğu bilinmektedir. Ayrıca Mersin-Kazanlı'da 1979'dan beri faaliyet gösteren ve krom üreten Kromsan Fabrikası, miktarı yaklaşık 1,5 milyon ton olan eski teknoloji katı atıklarını fabrikanın kendi alanı içinde depolamıştır. Bu atıklar yaklaşık %4,5-5,5 oranında Cr_2O_3 içermektedir.

Köleli [2] tarafından yapılan çalışmaya göre, Mersin ilinde mevcut değişik tarım arazilerinden alınan toprak numunelerinin toplam Cr içeriğinin toprak kirliliği kontrol yönetmeliğindeki sınır değerinin çok üstünde olduğu görülmüştür. Kromun toprak kolonundan sızarak yeraltı suyuna karışması, toprakta bulunan krom bileşiklerinin bitkiler tarafından alınarak besin zincirine girmesi ve toprakta bulunan kromun toz halinde havaya karışması veya deri yoluyla vücuda alınması gibi farklı yollarla krom insan sağlığını tehdit etmektedir.

Toprakta Cr adsorpsiyonuna ve dolayısıyla hareketliliğine etki eden birçok kimyasal faktör bulunmaktadır. Toprak pH'sı, Cr konsantrasyonu, redoks potansiyeli, kromla bileşik oluşturabilen inorganik ve doğal organik asit iyonları konsantrasyonları (fulvik asit, humik asit, sitrat), toprak yüzey kimyası ve topraktaki reaktif bölge miktarı önemli kimyasal faktörler arasında yer almaktadır [3]. Son

yıllarda yapılan çalışmalara göre bakteriler tarafından üretilen ekzopolimerik maddelerin de (EPS) metallere çok güçlü bileşikler oluşturup, metallere bitkiler tarafından alınmasından, biyoyararlılığı ve yeraltı sistemlerinde taşınımına kadar birçok alanda etkili olduğu görülmüştür [4-8]. Şekil 1.1' de krom mobilitesine etki eden faktörler ve prosesler verilmiştir. Görüldüğü üzere, Cr-EPS kompleks oluşumu ve toprak yüzeyine Cr adsorpsiyonu Cr'un yeraltı sistemlerinde hareketliliğine etki eden önemli proseslerin başında gelmektedir. EPS, bakterilerin değişen ortam koşullarına uyum sağlamak için ortama yaydıkları ve molekül ağırlığı bir kaç binden bir kaç milyon daltona ulaşan organik moleküllerdir [9]. Ortamda mikrobiyal respirasyon ile CO₂ oluşumu, oluşan organik asitlerin etkisi ile ortam pH'sının değişmesi veya ortamdan besin azalması gibi durumlar EPS oluşumunu tetikler [9-11]. Ayrıca biyofilm içerisinde hücre yoğunluğunun artması ile birlikte EPS parçalayan enzimlerin sentezi EPS oluşumu için bir diğer mekanizma olarak görülmektedir [10]. Örneğin, yüksek oksijen konsantrasyonlarında (%70 hava doygunluğu) *Pseudomonas aeruginosa* biyofilmleri alginik asit gibi yüksek molekül ağırlıklı organik polimerler üretmektedirler [12]. Ortamda bulunan bazı toksik maddeler de EPS oluşumunu tetiklerler [11]. Örneğin, Sheng ve ark. [13] tarafından yapılan bir çalışmaya göre, ortamda bulunan Cr ve Cd gibi toksik maddelerin *Rhodospseudomonas acidophila* bakterisi tarafından ortama EPS yayılmasına neden olduğunu göstermiştir. *Pseudomonas putida* bakteri kültürünün Cr(VI)'yı Cr(III) indirgenmesi sırasında ortama EPS yaydığı ve indirgenen Cr(III)'ün bir kısmının biyofilm hücreleri üzerine birikirken bir kısmının da ortamda bulunan EPS ile bileşik oluşturduğunu göstermiştir.



Şekil 1.1. Toprakta krom mobilizasyonuna/immobilizasyonuna etki eden faktörlerin ve proseslerin şematik gösterimi: ● işareti Cr kolloidini, (s) sıvı bileşikleri, (k) katı bileşikleri, (ads) adsorbe olan bileşikleri ve EPS ise ekzopolimerik madde ligandını temsil etmektedir.

Bir çalışmada glukoz ile beslenen bir anaerobik kemostat içerisinde eklenen yüksek krom dozajına karşı uyum sağlamak için kemostat içerisinde bulunan bakteriler tarafından, ortama EPS ve çözünebilir organik ürünler yayıldığı saptanmıştır [14]. Polisakkaridler EPS'nin temel yapısını oluştururken proteinler, karbohidratlar, nükleik asit ve lipid gibi moleküller EPS'nin diğer yapı taşları olarak görülmektedir. Proteinler içerisinde bol miktarda negatif yüklü amino asitler bulunmaktadır [15]. Hung ve ark. [16], *Pseudomonas fluorescens* Biovar II kültüründen saflaştırdıkları EPS moleküllerinde bulunan uronik asitin EPS'deki toplam karbohidratların %70'ini oluşturduğunu ve ayrıca saflaştırılan EPS içeriğinde asidik ve nötral şeker gruplarına (glukoz, fukoz, galaktoz vs.) ilaveten %2 oranında da protein bulunduğunu saptamışlardır. Metallerin EPS ile bileşik oluşturmasının en önemli nedeni, EPS içerisinde bulunan ve genelde negatif yüklü karboksil, amino ve fosfat gibi reaktif fonksiyonel grupların bulunmasıdır [5, 17]. Özellikle, karboksil

gruplar asidik EPS fonksiyonel gruplarının temelini oluşturmakta ve metallere bileşik oluşturmada büyük rol üstlenmektedir [5, 16, 18]. Bazı çalışmalar ise mikrobiyal EPS'de mevcut fosfat fonksiyonel gruplarında karboksilik gruplar kadar metal bağlanmasında etkili olduğunu göstermektedir [19, 20].

Ancak günümüze kadar literatürde Cr-EPS bileşikleri üzerine herhangi bir çalışma yapılmadığından, EPS'nin kromun suda oluşturacağı bileşikleri nasıl etkileyeceği tam olarak bilinmemektedir. Puzon ve ark. (2005)'e göre mikrobiyal prosesler sonucu ortaya çıkan organik moleküller Cr(III) ile kompleks oluşturarak Cr(III)'u çözünmüş iyonlar halinde suda tutmaktadır [6]. Harper ve ark. [21], tarafından yapılan bir çalışmaya göre ise, mikrobiyal EPS içerisinde bulunan -COOH gruplarının Pu(IV) ile kompleks oluşturmada büyük rol aldığıdır. Bu nedenle krom ile kirli toprakların temizlenmesi ve yeraltı sularında Cr mobilitesinin azaltılması, EPS gibi organik moleküllerin Cr ile girdiği etkileşimler ile buna bağlı bazı proseslerin tam olarak anlaşılmasına bağlıdır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1.KROM

Krom periyodik cetvelde 24. elementtir. Vanadyum ve manganın arasında bulunur ve ortalama atomik kütlesi 52'dir. Krom yer kabuğundaki en yüksek miktarda bulunan 21. elementtir [22].

2.1.1. Kromun Özellikleri

Bulunduğu seride erime noktası (1980 °C) en yüksek ikinci elementtir. Yoğunluğu 7,19 g/cm³'dür. Çok serttir ve oda sıcaklığında kimyasal reaksiyonlara cevap vermez. Bu inertlik termodinamik değil, kinetiktir. Isıtma ile ametallerle (O₂ ve Cl₂) birleşir [23].

Krom elementinin elektronik konfigürasyonu aşağıdaki gibidir;

[Ar].3d⁵.4s¹ ya da

1s² 2s² 2p⁶ 3s² 3p⁶ 3d⁵ 4s¹

↑↓	↓↑	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
1s	2s	2p		3s	3p		3d			4s					

Kromun elektronik konfigürasyonunun aslında [Ar].3d⁴.4s² olması gerekmektedir. 4s orbital enerjisinin, 3d orbital enerjisinden daha düşük olması nedeniyle 4s'teki bir elektron 3d'ye ödünç verilmektedir. Kromun yarı dolu orbitalleri krom kimyasının ve dolayısıyla reaksiyonlarının temelini oluşturur [24].

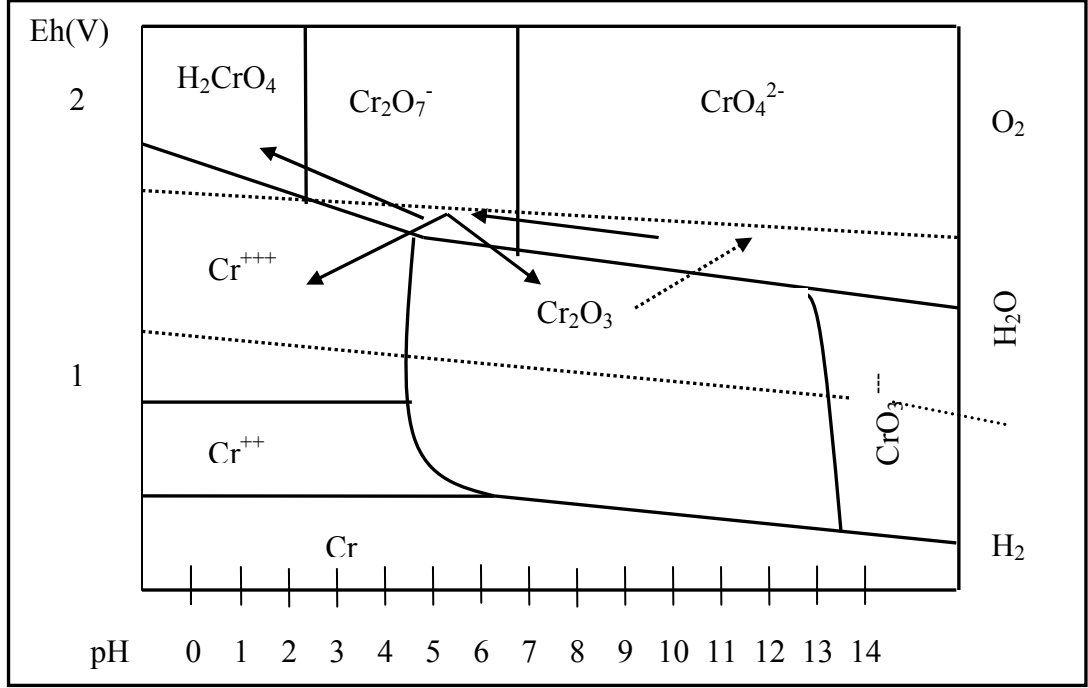
2.1.2. Kromun Kullanım Alanları ve Krom Kimyasalları Üretimi

Dünya genelinde krom minerallerinin %80'i metalürjik uygulamalar için, yaklaşık %15'i krom kimyasalları üretiminde ve gerisi refraktör uygulamalarında kullanılır. Bunların kullanımının hemen hemen hepsi için kromun kimyasal özellikleri önemlidir. Metalürjik uygulamalarda, kromun fiziksel özellikleri alışmaları oluşturmada önemli olsa da, bu kullanımların çoğunda esas olan kromdan gelen kimyasal özelliklerdir. Refraktör uygulamalarında trivalent krom oksidin inert doğası ne kendisiyle ne de diğer demir, alüminyum ve magnezyum gibi refraktör oksitlerle birleşmemesine, en korozif çevrede bile kullanılmasına neden olur [22].

Kromun anlaşılması için esas olan üç kimyasal karakteri aşağıdaki gibi sıralanabilir;

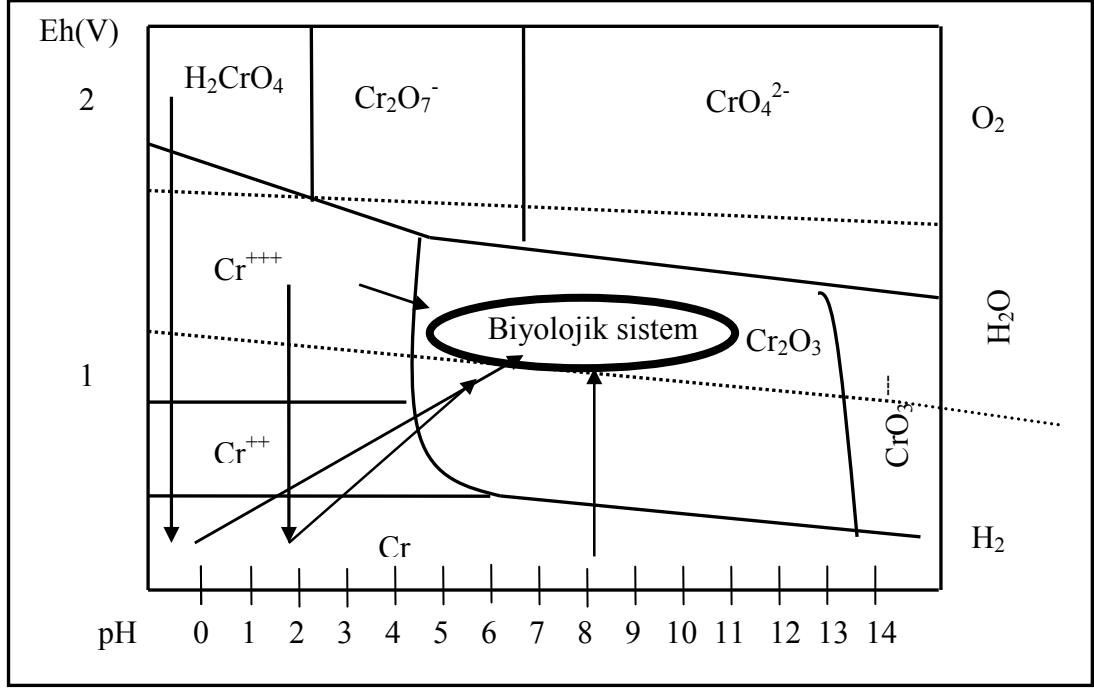
- 1) Kromun doğal koşullarda oluşan baskın formu trivalent oksittir.
- 2) Diğer formlar, doğal çevreyle temas halindeyse trivalent oksite dönüşmeye eğilimlidir.
- 3) Termodinamik durağanlığın olmadığı ortamlarda bile trivalent krom oksit tepkimeye çok yavaş girer [22].

Krom kimyasının anlaşılmasında anahtar faktör, bir oksidasyon seviyesinin diğerine dönüşmesinin anlaşılmasıdır. Bunun için, kimyasal özellikleri daha iyi göstermek amacıyla Eh-pH (potansiyel-pH) diyagramı kullanılır. Şekil 2.1'de krom için oluşturulan Eh-pH diyagramı bulunmaktadır. Şekilde görüldüğü üzere, pH 7-13 aralığında kromit minerali (Cr_2O_3) oksitlenerek kromata (CrO_4^{2-}) dönüşmektedir. Asidik koşullarda ($\text{pH} < 5$) suda mevcut en temel Cr(III) iyonu ise Cr^{3+} iyonudur. Cr^{3+} iyonu oksitleyici koşullar altında pH'ya bağlı olarak kromik asit (H_2CrO_4) veya dikromata (Cr_2O_7^-) dönüşmektedir [22].



Şekil 2.1. Krom kimyasalları üretiminin Eh-pH diyagramı [22]

Ayrıca, Eh-pH diyagramları, kromun kimyasal reaksiyonlarının tanımlanması amacıyla da kullanılabilir. Krom oksitlenme/indirgenme basamağını etkileyen proseslerden bir tanesinde biyolojik reaksiyonlardır (Şekil 2.2). Şekilde elipsle gösterilen bölge, birçok biyolojik aktivitenin gerçekleştiği bölgedir. Mikrobiyal aktiviteler sonucunda Cr(VI) kolaylıkla Cr(III)'e ve hatta Cr(II)'ye indirgenebilmektedir. Su ortamında bulunan, Cr(III) ve Cr(II) iyonları, organik maddelerin fonksiyonel grupları ile etkileşime girerek organo-Cr komplekslerini oluşturabilmektedir. Bu indirgenme reaksiyonlarında ortamda bulunan organik maddelerin elektron verici özelliği nedeniyle, Cr (VI) indirgenmesinde rol almaktadır [22]. Yukarıda bahsedilen bu reaksiyonlar neticesinde krom, hem deri sanayinde hem de ağaç işlemede çok yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.



Şekil 2.2. Kromun biyolojik sistemlerde temel kullanımının Eh-pH diyagramı [22]

Krom sertlik, mukavemet yüksek sıcaklığa dayanıklılık gibi fiziksel özelliklere sahip olması nedeniyle, çelik alaşımları yapımında, havanın nemindeki oksijenle reaksiyona çok zor girmesi özelliğinden dolayı kaplama olarak kullanılabilir. Kromun refrakter uygulamalarında, krom(III)'ün durağanlığı esastır ve mevcut yüksek sıcaklık ve korozif koşullara dayanma yeteneği nedeniyle kullanılır [22].

2.1.3. Kromun Topraktaki Kaynağı ve Önemi

Krom, bitkiler için gerekli olmayan, insan ve hayvanlar için gerekli olan bir elementtir. Cr(III), glikoz metabolizmasında insülin etkisine neden olarak 'glikoz tolerans faktörü' görevini üstlenmiştir. Bunlara ek olarak, protein ve nükleik asit yapısını stabilize eder ve bazı enzimlerin aktive olmasına neden olur [25].

Yerkabuğu ortalama 80 mg/kg Cr içermektedir. Serpantin ve ultrabazik kayalar 3400 mg/kg'a kadar olan miktarlarda krom içerebilir. Krom içeren endüstriyel atıksular ve kirlenmiş topraklar da 3000 mg/kg'a kadar olan miktarlarda krom içermektedir [25].

Yerkabuğunda krom genelde, Cr(III) olarak bulunmaktadır. En önemli krom minerali kromit ($\text{FeO} \cdot \text{Cr}_2\text{O}_3$)'tir. PbCrO_4 gibi Cr(VI) bileşikleri de bulunmaktadır. Topraklarda krom her iki oksidasyon basamağında da bulunabilir [25].

2.1.4. Krom Toksisitesi

Cr(III) bileşiklerinin ve metalik kromun toksik etkisi kesin olarak kanıtlanmış değildir. Buna karşılık Cr(VI) bileşikleri çok daha toksiktir. Kromat ve dikromatlar derinin zarara uğramasına (aşırı iltihaplanma, alerji) neden olmaktadır. Krom asidi, buharı veya tuzlarının uzun süre solunum sistemini etkilemesi burun perdesinin delinmesine (sürekli maruz kalan kişilerde meslek hastalığı) ya da bronş kanserinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır [25]. Metalik Cr, Cr(VI) ve Cr(III)'ün kanserojenik etki sınıflandırması izelge 2.1' de verilmiştir [26].

Çizelge 2.1. Krom türlerinin kanserojenik etki sınıflandırması [26]

Krom Türü	Kanser Sınıfı
Krom(0)	Grup 3 ^a
Krom(III)	Grup 3 ^a
Krom(VI)	Grup 1 ^b

^a Grup 3: Kanserojenik potansiyele sahip olmaması nedeniyle sınıflandırılmamış.

^b Grup 1: İnsanlar için kanserojenik.

2.2. TOPRAK

Minerallerin ve organik artıkların parçalanarak ayrışması sonucu oluşan, yeryüzünü ince bir tabaka halinde kaplayan, doğal bir kaynaktır [27]. Başka bir tanımla; yer kabuğunun, içinde yaşam bulunan en üst kısmının bir parçasıdır. Aşağıya doğru katı ve gevşek kayalarla, yukarıda vejetasyon örtüsü veya atmosferle sınırlanmıştır [25].

Toprak, hem çözeltileri ve süspansiyonları taşıyabilen gözenekli bir materyal, hem de çözelti ve süspansiyondan molekül ve partikülleri tercihli olarak adsorplayan çok iyi bir adsorbenttir. Toprak yapısındaki doğal gözenekler mikroorganizmalar ve bitki kökleri gibi canlı varlıkların yaşamını desteklemek için gereken oksijeni, besin elementlerini ve suyu barındırarak iyi bir habitat sağlar. Toprak, sadece sudaki çoğu kirletici için bir filtre değil, aynı zamanda toprak gözeneklerindeki mikroorganizmalar tarafından bu kirleticilerin ayrıştırıldığı canlı bir filtredir [28].

Topraklardaki kil taneciklerinin yüzeyinde, organizmalar için besinler ve karbon enerji kaynakları bulunur. Üçüncü en önemli toprak karakteristiği ise, yüksek tamponlama kapasitesinin veya doğal koşullar altında hızlı değişimlere karşı direncin var oluşudur. Sıcaklık düşük termal iletkenlik nedeniyle, asidite tamponlayıcı iyonların hareketi veya durağanlığı nedeniyle yavaş bir şekilde değişir [28].

Topraklar katı, sıvı ve gaz formda birçok maddeyi içerir. Genelde toprağın yüzey horizonunun %45'ini inorganik katılar, %5'ini organik katılar, yaklaşık %20-30'unu hava, %20-30'unu su oluşturmaktadır. Topraktaki su ve gaz oranları hava sıcaklığı gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir [29]. Çizelge 2.2'de toprakta bulunan bazı temel elementlerin miktarları verilmiştir. Görüleceği üzere C, Ca, Si, Na ve Mg gibi elementler toprakların temel yapı taşlarını oluştururlar.

Çizelge 2.2. Topraklarda bulunan bazı elementlerin ortalamaları (Değerler mg/kg birimiyle verilmiştir.) [29]

Element	Ortalama	Element	Ortalama
Br	0,85	Na	12000
Toplam C	25000	Nd	46
Ca	24000	Ni	19
Cr	54	Toplam S	1600
F	430	Si	310000
Fe	26000	Sr	240
Mg	9000	Zn	60
Mn	550	Zr	230

2.2.1. Toprak İnorganik Maddesi

İnorganik katılar, topraktaki katı maddenin %90'ını oluşturur. Bunların büyüklüğü, yüzey alanı ve yük davranışları gibi özellikler topraktaki birçok önemli dengeleri, kinetik reaksiyonları ve toprak proseslerini önemli biçimde etkiler. Toprağın inorganik bileşenleri, boyutları tanecik boyutu 0,002 mm olan killerden, tanecik boyutu 2 m'den büyük olan çakıllara ve kayalara kadar değişebilen birincil ve ikincil minerallerdir. Topraklarda yaygın olarak bulunan birincil ve ikincil mineraller Çizelge 2.3'te verilmiştir [29].

Çizelge 2.3. Toprakta bulunan bazı birincil ve ikincil mineraller [29]

ADI	KİMYASAL FORMULÜ
Birincil Mineraller	
Kuvars	SiO ₂
Muskovit	KAl ₂ (AlSi ₃ O ₁₆)(OH) ₂
Albit	NaAlSi ₃ O ₈
Rutil	TiO ₂
İkincil Mineraller	
Kaolinit	Si ₄ Al ₄ O ₁₀ (OH) ₈
Montmorillonit	M _x (Al, Fe ²⁺ , Mg) ₄ Si ₈ O ₂₀ (OH) ₄ (M=Metal Katyonu)
Götit	α-FeOOH
Gibsit	γ-Al(OH) ₃
Kalsit	CaCO ₃

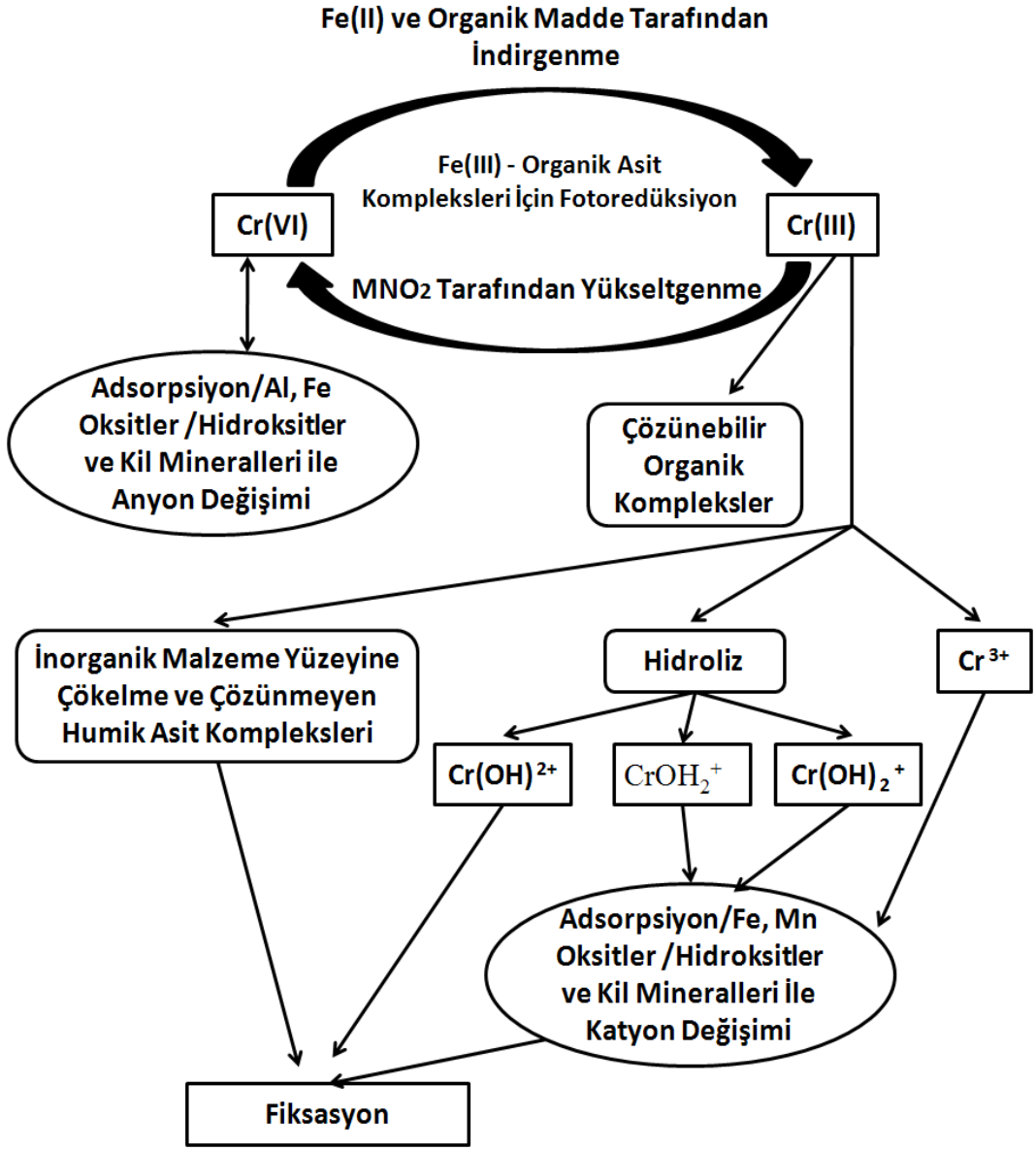
2.2.2. Toprak Organik Maddesi

Toprak organik maddesi toprak kimyasında önemli bir rol oynar. Kil minerallerine karşı ilgilidir ve metallere kompleks oluşturabilme kapasitesine sahiptir. Toprak organik maddesinin ana bileşenleri C (%52-58), O (%34-39), H(%3,3-4,8) ve N (%3,7-4,1)'tur. Diğer yaygın olmayan elementler ise P ve S'tür [29].

Sedimentlerde ve topraklarda karboksil, karbonil, amino, imidazol, fenilhidroksil ve sülfhidrol grupları içeren organik maddeler mevcuttur. Bu gruplar ve protonlar arasındaki komplekslerin stabilitesi çok zayıftan çok kuvvetliye kadar değişebilir. Organik maddeler, organizma yüzeyi, çözünmüş organik partiküller veya mineral yüzeye adsorbe olmuş organik malzeme olarak, metallere kompleks oluşturabilen önemli yüzey fonksiyonel gruplarını oluştururlar [3].

2.3. KROMUN TOPRAKTAKİ KİMYASI

Şekil 2.3'te kromun toprakta uğrayabileceği temel prosesler verilmiştir. Görüldüğü üzere bu temel prosesler arasında adsorpsiyon, kompleks oluşumu, iyon değişimi, iyonlaşma reaksiyonları ve indirgenme/yükseltgenme reaksiyonları başta gelmektedir. Hem Cr(VI) hemde Cr(III) toprakta bulunan Fe, Al-oksitler ve bazı kil mineralleri ile etkileşime girebilmektedir. Bunlara ilaveten, toprakta bulunan bakteriler, doğal organik maddeler ve MnO₂ gibi mineraller kromun oksidasyon basamağını belirleyici rol oynamaktadır. Diğer taraftan Cr(III) suda hidrolize olarak pH'ya bağlı olarak CrOH²⁺, Cr(OH)₂⁺ gibi Cr-hidroksil iyonlarına dönüşmektedir. Toprakta bulunan organik maddeler ise Cr(III) ile kompleks oluşturarak sudaki spesiasyonunu değiştirebilmektedir. Bakteriler tarafından üretilen EPS'de bu organik moleküller arasında yer almaktadır.



Şekil 2.3. Sucul çevrede inorganik kroma ve organo-Cr komplekslerine etki eden prosesler [26]

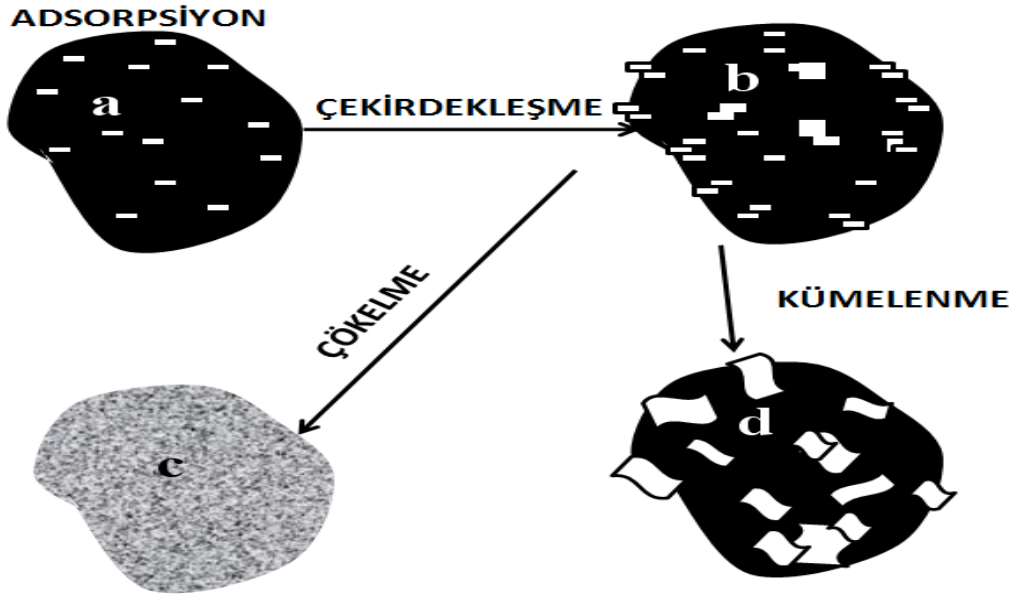
2.3.1.Yüzeye Çökelme Prosesi

Metal katyonların bir yüzeyde artmasıdır. Yüzeye çökelmenin oluşması için, birçok termodinamik neden vardır.

- 1) Benzer siteler tarafından sağlanan çekirdekleşme enerjisi, katı yüzeyindeki enerjiden daha yüksek olmalıdır.
- 2) Yüzey çökelme aktivite katsayısı 1'den küçük olmalıdır.
- 3) Dielektrik direncinin katı çözeltiliye göre daha az olması nedeniyle yüzey çökelinin çözünürlüğü azalır [29].

Yüzeye çökelme polimerik metal komplekslerinin yüzeydeki artışından ve/veya sudaki polimerlerin adsorplanmasından kaynaklanır. Adsorpsiyon, yeni oluşmuş sitelerde tek tabaka yüzeyinde devam ettiğinde, yüzeye çökelme gerçekleşir. Kimyasal türlerin oluşturduğu çökelme, minerallerin çözünmesiyle bozulduğunda, bu durum çökelmenin tersiyle (coprecipitate) sonuçlanır [29].

Yüzey kompleksleşmesi ile yüzeye çökelme prosesleri arasında bir süreklilik vardır. Bu süreklilik çözeltideki metal iyonu sayısı ve yüzey siteleri sayısının birbirine oranı, metal oksit bağlarının gücü gibi birçok faktöre bağlıdır. Düşük yüzey tabakası mevcudiyetinde, yüzey kompleksleri daha baskındır. Yüzey tabakasının artması, yüzeyde toplanan ve ayrılmayan çekirdeklerin oluşumuyla sonuçlanır. Yüzey yükünün artması, yüzeye çökelmeyi daha baskın bir mekanizma haline getirir (Şekil 2.4). Fendorf ve ark. [29] silisyum oksit üzerine Cr(III) adsorpsiyonun incelemişler ve %20'nin altındaki yüzey tabakasında baskın prosesin iç küre kompleks oluşumu olduğunu, %20'nin üstündeki yüzey tabakasındaki baskın prosesin ise yüzeye çökelme olduğunu saptamışlardır.



Şekil 2.4. Oksit üzerine metal iyonu sorpsiyonu [29]

- Metal yükü fazla olmayan yüzey tabakasında, izole edilmiş site bağı (adsorpsiyon)
- Metal yükünün artmasıyla, M hidroksit çekirdeklenmesi
- Yüzeye çökme
- Yüzeyde kümelenme

2.3.2. Yükün Sıfır Olduğu Nokta (Point of Zero Charge)

Toprak ve toprak bileşenleri için en kullanışlı ve anlamlı parametrelerden biridir. Yüzeyin net yükünün sıfır olduğu pH değerini gösterir. Ölçülen pH, PZC'den düşükse yüzey net yükü pozitif, yüksekse net yükü negatiftir.

Toprak bileşenleri geniş bir PZC değerine sahiptir. Bazı mineraller için pH-PZC değerleri çok düşük iken, bazı mineraller için çok yüksektir (Çizelge 2.4). Oksitler yüksek PZC değerine sahipken, organik maddeler ve silikatlar düşük PZC değerine sahiptir. Düşük PZC değeri, toprak net yükünün negatif olduğunu ve kation adsorpsiyonu için daha elverişli bir ortam olduğunu işaret eder [29].

Çizelge 2.4. Bazı minerallere ait pH-PZC değerleri [29]

Materyal	pH-PZC
α -Al ₂ O ₃	9,1
α -Al(OH) ₃	5
γ -AlOOH	8,2
Fe ₃ O ₄	6,5
α -FeOOH	7,8
α -Fe ₂ O ₃	6,7
Fe(OH) ₃ (amorf)	8,5
MgO	12,4
δ -MnO ₂	2,8
β -MnO ₂	7,2
SiO ₂	2,0
Feldispat	2,0-2,4
Kaolinit	4,6
Montmorillonit	2,5

2.3.3. İyon Değişimi Prosesi

İyon değişimi, yüklü bir yüzey ve çözelti arasındaki bir iyonla, çözeltideki başka bir iyonun yer değiştirmesidir. Topraktaki katyon değişim kaynakları, kil mineralleri, organik maddeler ve amorf minerallerdir. Anyon değişim kaynakları ise, özellikle 1:1 yapısındaki kil mineralleri, metal oksitler ve amorf materyallerdir. Toprağın katyon ve anyon değişim kapasitesi, topraktaki mevcut iyonların bitkiler tarafından alınmasında, biyoyararlılığında ve yeraltı sistemlerinde taşınımında etkili olmaktadır.

İyon değişimi reaksiyonları, hızlı, difüzyon kontrollü, geri dönüşümlü ve stokiometriktir. Birçok durumda iyon değişim yüzeyi, tek bir iyonla özeldir. İyon değişimi elektrostatik kuvvetleri içerir ve iyon değiştiricilerin tercihi veya seçiciliği, Coulomb yasası ile açıklanmaktadır.

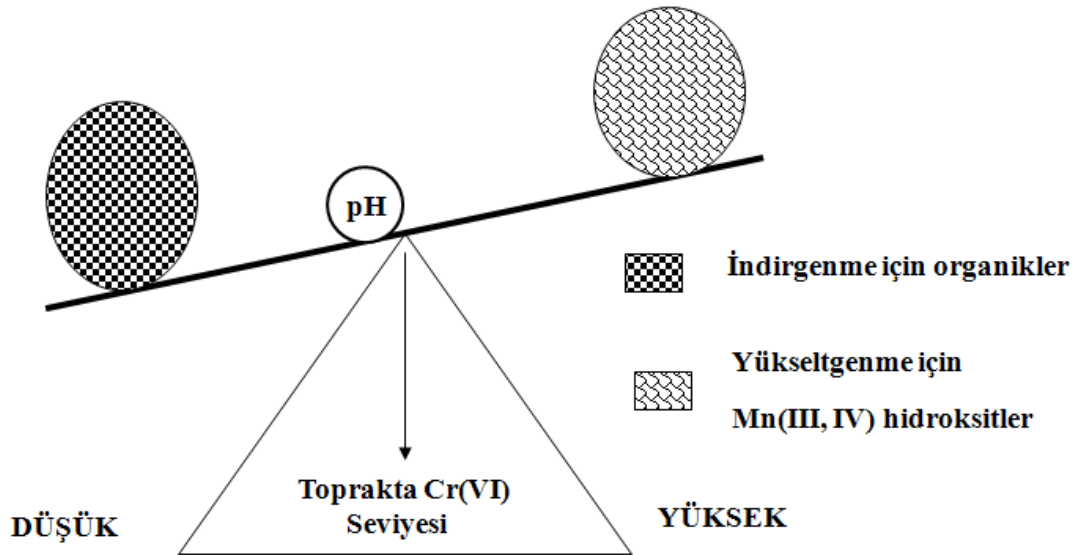
Toprakta anyon değişim oranı, toprak içeriğindeki organik ve inorganik maddelerin türüne, miktarına ve iyonun yüküne ve çapına bağlıdır. Kaolinit gibi kil minerallerinin yüzeyindeki iyonlar iyon değişimine tabi olurken, 2:1 kil minerallerinin hem yüzeyindeki hem de iç kısmındaki iyonlar iyon değişimine uğrayabilmektedir [29].

2.3.4. Yükseltgenme-İndirgenme Prosesi

Cr(VI) toprakta, çözünebilir anyon durumunda (CrO_4^{2-} veya HCrO_4^-), bulunurken Cr(III) toprakta, Cr_2O_3 , $\text{Cr}(\text{OH})_3$ gibi bileşikler halinde bulunur ve suda çözünmez. Bartlett ve James [22] toprakta Cr(III)'ün Cr(VI)'ya yükseltgenebileceğini, aynı toprakta Cr(VI)'nın Cr(III)'e indirgenebileceğini keşfetmişlerdir. Karşılıklı çözünürlük ve Cr(III) oksidasyon potansiyeli, toprakta koruyucu özellikte bir dengedir. Cr(VI) ile kirlenmiş topraklarda Cr(III)'e

indirgenme, böyle toprakların ekolojik olarak korunması için önemli bir durumdur [22].

CrCl_3 , Cr(OH)_3 ve Cr(III) 'ün diğer bazı formları gibi çözülmüş veya yeni çökelmiş Cr(III) 'ün çeşitli türlerini içeren toprakta Cr(III) mevcudiyeti, Cr(VI) 'nın, Mn(III, IV) hidroksitler tarafından indirgenmesinden kaynaklanmaktadır. Buna ek olarak Cr(VI) 'nın indirgenme reaksiyonları organik maddeler ve benzeri indirgeyici maddelerle de sağlanabilmektedir. Göreceli yükseltgenme-indirgenme oranı, Cr(VI) 'nın reaksiyondaki dengesiyle alakalıdır. Böyle bir denge Şekil 2.5'deki gibi gösterilebilmektedir [22].

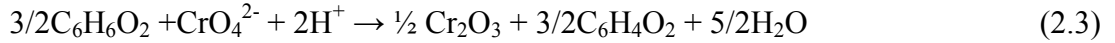
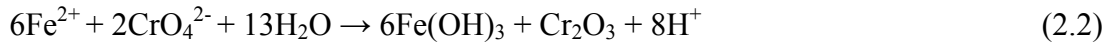
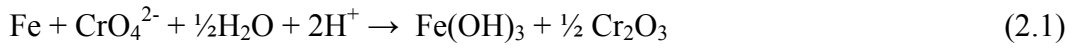


Şekil 2.5. Kromun yükseltgenme-indirgenme dengesi [22]

Terazideki dairelerin oransal boyutları, topraktaki indirgeyici ve yükseltgeyici maddelerin miktarlarını, durumları ise reaktivliklerini göstermektedir. Her iki reaksiyonda da toprak pH'sı temel parametredir. pH 6-7 arasında yükseltgenme maksimumdur. Genel olarak yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonları bazik pH'larda azalır. Bu dengedeki dalgalanmalar, topraktaki indirgenme-yükseltgenme

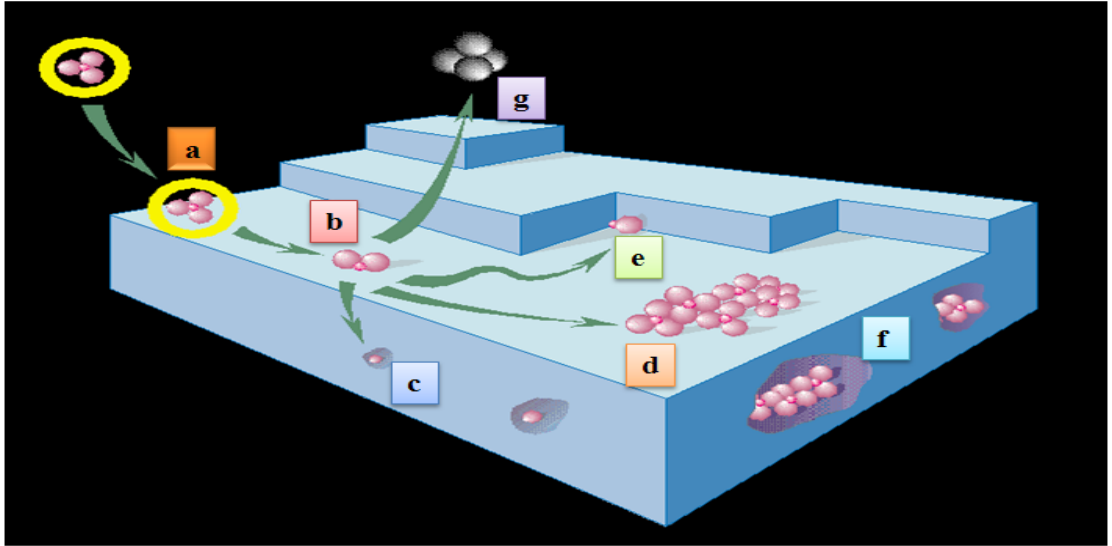
prosesinin dinamik ve ayarlanabilir özelliklerini göstermektedir. Ayarlanabilme özelliği ile remediasyon uygulamaları için önem arz etmektedir. ABD gibi bazı ülkelerde Cr(III)'ün toprakta koşul değişimine bağlı olarak Cr(VI)'ya dönüşebileceği ihtimalinden dolayı, topraktaki maksimum miktarına sınırlandırılma getirilmiştir. Cr(III)'ün Cr(VI)'ya oksidasyonu Mn (III, IV) (hidroksit)'lerin minerolojisine, topraktaki seviyesine ve toprak pH'sına bağlıdır. Bunlara ek olarak organik karbon içeren maddeler, Fe(II), sulfitler ve diğer bazı indirgeyici maddeler Cr(VI)'nın Cr(III)'e indirgenmesine neden olmaktadır [22].

Kromun topraktaki yükseltgenme-indirgenme reaksiyonlarından bazıları, aşağıda verilmiştir [22, 30].



2.4. ADSORPSİYON

Adsorpsiyon, katı ve sıvı fazlar arasındaki ara kesitte madde veya materyal birikimidir. Çözültiden çözülmüş moleküllerin veya katı yüzeyden çözücü giderimini de içeren bir ifadedir. Yüzeğe çökelmeyi veya polimerizasyon proseslerini içermez. Adsorpsiyon, yüzeğe çökelme ve polimerizasyon prosesleri birlikte sorbsiyon mekanizmasını oluşturan, taşınımı geciktirici parametrelerdir. Toprak yüzeyinde oluşabilecek birçok fiziksel ve kimyasal sorbsiyon mekanizması vardır. Bu mekanizmalar Şekil 2.6'da verilmiştir [29].



Şekil 2.6. Mineral-su arafazında bir iyonun çeşitli sorpsiyon mekanizmaları

1) Dış küre kompleks oluşumuyla bir iyonun adsorpsiyonu (a). 2) İç küre kompleks oluşumu ve su kaybı (b). 3) Kafes difüzyonu ve mineral kafesi ile isomorfik yer değiştirme (c). 4 ve 5) Hızlı boylamsal difüzyon veya yüzeyde polimer oluşumu (d) ve yüzeydeki çöküntülere adsorpsiyon (e). Yüzeydeki partiküllerin gelişmesi, kafes yapıları içinde yüzey polimerlerinin iyice gömülmesiyle sonuçlanan yüzey polimerleri (f). Son olarak, adsorbe edilen iyonun dinamik bir denge kurularak, çözültiye geri difüze olması veya yüzey redoks reaksiyonlarının bir ürünü olarak oluşması (g) [29].

Adsorpsiyon, topraktaki en önemli kimyasal proseslerden biridir. Bitki besinlerinin, metallerin, pestisitlerin ve toprak yüzeyinde bulunan organik maddelerin belirlenmesini sağladığı için bitkilerin ve toprak kirlenici maddelerin taşınmasında çok önemli bir yere sahiptir.

Adsorpsiyon, fiziksel kuvvetler olan van der Waals ve kimyasal kuvvetler olan elektrostatik dış küre (iyon değişimi gibi) kompleks kuvvetlerini içerir. Kimyasal kuvvetler, ligand değişim modelini içeren iç küre kompleksleşmeyi kapsayan etkileşimlerinin bir sonucudur [29].

2.4.1. Topraktaki İnorganik Maddelerin Adsorpsiyon Prosesindeki Yeri

Toprakta bulunan inorganik maddeler, yüzeylerinde bulundurdukları fonksiyonel gruplar ve bunların yük karakteristikleriyle toprağa adsorbent özelliği kazandırır. Bu fonksiyonel grupların elektriksel olarak yüklenmesi üzerinde, toprak pH'sının önemli bir etkisi vardır ve fonksiyonel grupların yüküne bağlı olarak iyon seçiciliği söz konusudur [3, 28].

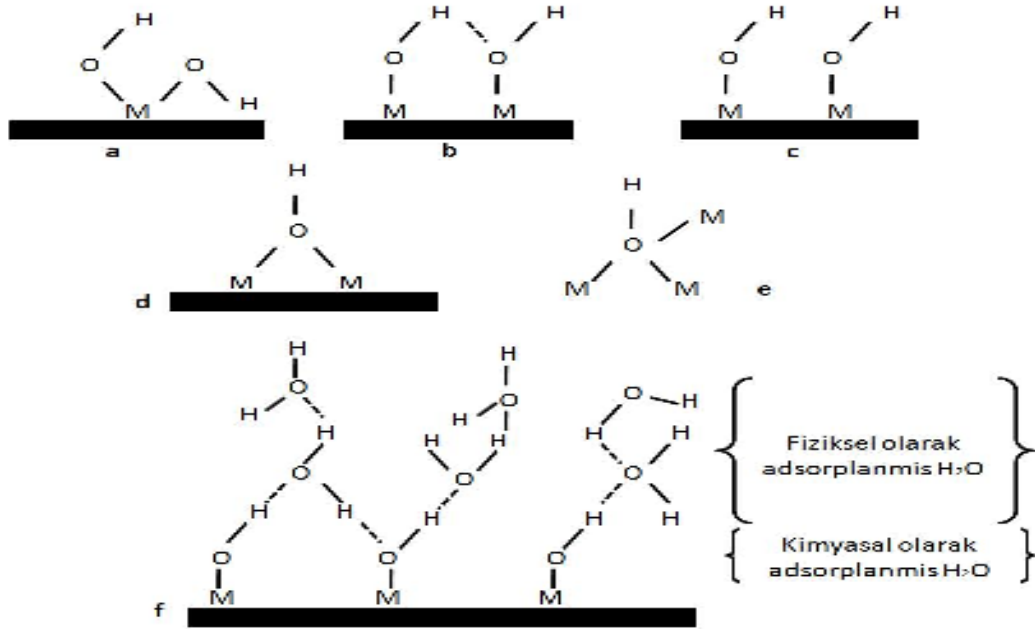
2.4.1.1. Topraktaki inorganik maddelerin yüzey fonksiyonel grupları ve mineral tipleri

Yüzey fonksiyonel grupları ara yüzeyin elektriksel özelliklerini, bu grupların yoğunluğu da adsorpsiyon kapasitesini etkiler. Bu bilgiler ışığında, yüzey fonksiyonel gruplarının tanımı, yüzey kompleksleşmesi teorisinin temelini oluşturur.

Mineraller, su jeokimyasında adsorbent olarak kabul edilir. Hidroksit mineraller, proton verebilen yüzey fonksiyonel gruplarına sahiptir. Bu nedenle bu katı fazlara olan adsorpsiyon, pH'ya bağlıdır. Aluminosilikat mineralleri sürekli yüke

sahip olan ve olmayan olarak iki gruba ayrılabilir. Sürekli yükü olmayan aluminosilikat mineralleri proton verebilen yüzey fonksiyonel gruplarına sahiptir. Killer, mikalar, zeolitler ve Mn oksit türlerinin birçoğunda olduğu gibi sürekli yüke sahip olan mineraller, proton verebilen fonksiyonel gruplara ek olarak, iyon değişimi yapabilen sitelere de sahiptir. Tuz tipi minerallerdeki yüzey fonksiyonel grupları kalsit yüzeyindeki Ca^{2+} veya CO_3^{2-} gibi katyon veya anyonlara sahiptir. Sülfür mineralleri indirgenme reaksiyonlarında büyük öneme sahiptir. Bu mineraller, hem proton verebilen hem de tuz tipi yüzey fonksiyonlarına sahip olmalarına rağmen, metal iyonu sorpsiyonu esas olarak çökelme reaksiyonları tarafından kontrol edilir [3].

Sürekli yükü olmayan oksitler ve aluminosilikatlar: Yüzey hidroksil grupları, oksit ve aluminosilikat minerallerinde kompleksleşme sitelerini oluşturur. Bu grupların çeşitli türleri Şekil 2.7’de verilmiştir. Yüzeyde bulunun mevcut M (metal) ve O (oksit), kimyasal kuvvetlerin dengesizliğinden kaynaklanır. Yüzey hidroksil grupları arasındaki hidrojen bağları, su ve su buharı, suyun fiziksel adsorpsiyon tabakasını oluşturur [3].



Şekil 2.7. Yüzey hidroksil gruplarının bazı türleri [3]

Yüzey hidroksil gruplarının tipleri: Oksit ve alumino silikatların kristal yapılarının analizi, farklı tipteki yüzey hidroksillerinin farklı reaktivliğe sahip olduğunu göstermektedir. Örneğin gotit (α -FeOOH), reaktivliği FeOH grubundaki oksijenin koordinasyon çevresine bağlı olan dört farklı tipte yüzey hidroksili içerir. Değişik minerallere ait yüzey hidroksil gruplarının yoğunluğu Çizelge 2.5'te verilmiştir. FeOH sitelerinden üçü Fe(III) iyonlarının oksijenle oluşturduğu farklı koordinasyon türevleridir. Dördüncü ise Fe(III) iyonlarına suyun kemisorpsiyonunun bir sonucu olan lewis-asit siteleridir. Su koordineli lewis asiti siteleri, proton verici siteler olarak davranabilir. Aluminosilikatlar hem alumino(\equiv AlOH), hem de silanol(\equiv SiOH) gruplarını içerir. Kaolinit ise aluminol, silanol ve su adsorplanmış lewis asit sitesi olarak üç farklı yüzey hidroksil grubu içerir [3].

Çizelge 2.5. Yüzey hidroksil gruplarının yoğunluğu [3]

Mineral faz	Site yoğunluk aralığı Site sayısı/nm ²	Proton alıcı gruplar Site sayısı/nm ²	Proton verici gruplar Site sayısı/nm ²
α -FeOOH	2,6-16,8	4,4	6,7
α -Fe ₂ O ₃	5,0-22,0	-	-
Ferrihidrit	0,1-0,9 mol/mol Fe	-	-
α -Al(OH) ₂	2,0-12,0	2,8	5,6
γ -Al(OH) ₂	6,0-9,0	-	-
SiO ₂	4,5-12	0	Tamamı
Kaolinit	1,3-3,4	0,35	1,0

Sürekli yapısal yükü olan filosilikat mineralleri: Kil mineralleri birçok sistemde önemli bir adsorbenttir. Kaolinit, simektit, vermikulit ve illitik mika da bulunan mineraller, yüksek yüzey alanına, küçük partiküllere sahip olmaları ve geniş bir yelpazede bulunmaları nedeniyle önemlidir. Bu mineraller yüzeydeki hidroksil gruplarına ek olarak siloksan halkalı ($\equiv\text{Si}_2\text{O}$) grupları da içerirler. Yüzey fonksiyonel grubu olarak siloksan halkaları, kil minerallerinin kristal kafes yapılarındaki sürekli yükün varlığının nedenidir [3].

2.4.2. Topraktaki Organik Maddelerin Adsorpsiyon Prosesindeki Yeri

Toprakta bulunan organik maddeler, tıpkı toprak inorganik bileşenlerinde olduğu gibi, yüzeylerinde bulundurdukları fonksiyonel gruplar ve bunların yük karakteristikleriyle toprağa adsorbent özelliği kazandırır. pH artışıyla organik maddeler yüzeylerindeki H^+ iyonunu kaybederek, özellikle topraktaki katyonlar için negatif yüklü adsorpsiyon siteleri oluşturur [3, 28].

2.4.2.1. Topraktaki organik maddelerin fonksiyonel grupları ve yük karakteristikleri

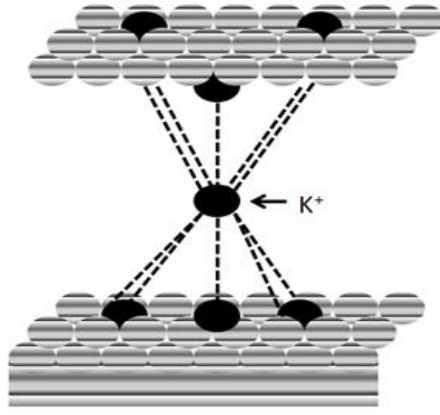
Topraktaki organik maddelerin katyon değiştirme kapasitesi kil minerallerinden daha fazladır. Topraktaki miktarlarının az olması durumunda bile, anyonların toprakta taşınımını geciktirirler. Organik maddeler pH değerinin ancak 3'den yüksek olması durumunda negatif olarak yüklenirler. pH'nın artması durumunda, proton vermek veya fonksiyonel gruplardan H^+ iyonunun ayrılması suretiyle negatif olarak yüklenme artış gösterir. Karboksilik ve fenolik grupların toprak doğal pH'sında proton verme özelliği olmasından dolayı, toprağın negatif yüklenmesinde önemli rol oynarlar. Toprak organik maddesinin ve kil fraksiyonlarının pH'ya bağlı katyon değişim kapasitesi Çizelge 2.6'da verilmiştir [29].

Çizelge 2.6. pH'a bağlı olarak organik maddelerin ve kil fraksiyonlarının toprak katyon değişim kapasitesine katkıları [29]

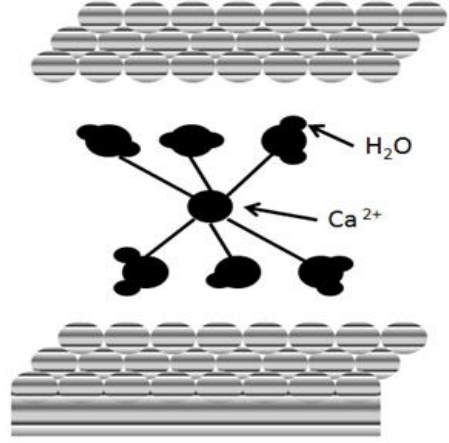
pH	Kil Fraksiyonu (cmol/kg kil)	Organik Fraksiyon (cmol/kg TOM)	TOM'nin % katyon değişim kapasitesi
2,5	38	36	19
3,5	45	73	28
5	54	127	37
6	56	131	36
7	60	163	40
8	64	215	45

2.4.3. Yüzey kompleksleri

Toprak çözeltisinde bulunan bir iyon ve molekülün yüzey fonksiyonel gruplarıyla etkileşerek kararlı moleküller oluşturması yüzey kompleksi olarak adlandırılmaktadır. İç küre ve dış küre olmak üzere iki tür yüzey kompleksi bulunmaktadır. Eğer yüzeyle bağlı olan molekül veya iyon arasında su mevcutsa, kompleks türü dış küre, mevcut değilse kompleks türü iç küredir (Şekil 2.8). Dış küre kompleksler, elektrostatik kolombik etkileşimleri içerdiğinden, kovalent ve iyonik bağlı iç küre komplekslerden daha zayıftır. Dış küre kompleksleşme, dengede olmayan ve hızlı bir şekilde oluşabilen bir prosestir. İç küre kompleksleşme ise dengeli ve daha yavaş oluşan bir prosestir. Dış küre ve iç küre kompleksleşme aynı anda da gerçekleşebilmektedir [29].



**İç Küre Yüzey Kompleksi:
Vermikülit Üzerine K^+**



**Dış Küre Yüzey Kompleksi:
Montmorillonit Üzerine $Ca(H_2O)_6^{2+}$**

Şekil 2.8. 2:1 Kil mineralleri-metal iç küre-dış küre kompleks oluşumu [29]

pH, yüzey yükü, iyonik güç, sorbent tipi ve kompleks veya ürün sorpsiyon tiplerine zamanın etkisi, kompleks oluşumunda önemli çevresel faktörlerdir. Bunlardan özellikle iyonik gücün etkisi, kompleks türünün belirlenmesinde önemlidir. İyonik gücün ve pH'nın montmorillonit üzerine Pb adsorpsiyonundaki etkisi Çizelge 2.7'de verilmiştir [29].

Çizelge 2.7. pH ve iyonik güce bağlı olarak montmorilinit-Pb adsorpsiyon kompleks tipleri [29]

I (M)	pH	Çözeltiden % Giderim	Adsorbe edilen Pb(II) (mmol/kg)	Birincil Adsorpsiyon Kompleksi
0,1	6,77	86,7	171	İç küre
0,1	6,31	71,2	140	İç küre&dış küre
0,006	6,76	99,0	201	İç küre&dış küre
0,006	6,4	98,5	200	Dış küre
0,006	5,83	98,0	199	Dış küre
0,006	4,48	96,8	197	Dış küre

2.4.3.1. Toprak organik maddesi ve inorganik maddesi arasındaki kompleks oluşumu

Organik asitler, organik amin katyonları ve amino asitler, Al ve Fe oksit gibi metal oksit içeren kil mineralleriyle kompleks oluşturabilmektedir. Organik asitler, toprak doğal pH'sında negatif olarak yüklenir fakat bu yüklenme pH'ya bağlı bir yüklenmedir. Asidik grupların pKa değerinin altında, H bağı ve van der Waals kuvvetlerinin hakim olduğu bir adsorpsiyon şekli gözlenebilmektedir. Protein ve iyonlaşabilen bazı organik maddeler, montmorillonit gibi genişleyebilir, silikat tabakaları ara yüzeyine adsorplanabilmektedir [29].

Kil üzerine organik katyonların adsorpsiyonu, organik katyonların molekül ağırlıklarına bağlıdır. Büyük organik katyonlar kil mineralleri üzerine, inorganik katyonlardan daha fazla adsorbe olur. Çünkü organik katyonlar daha uzun moleküler yapıya ve daha yüksek molekül kütlesine sahiptir [28].

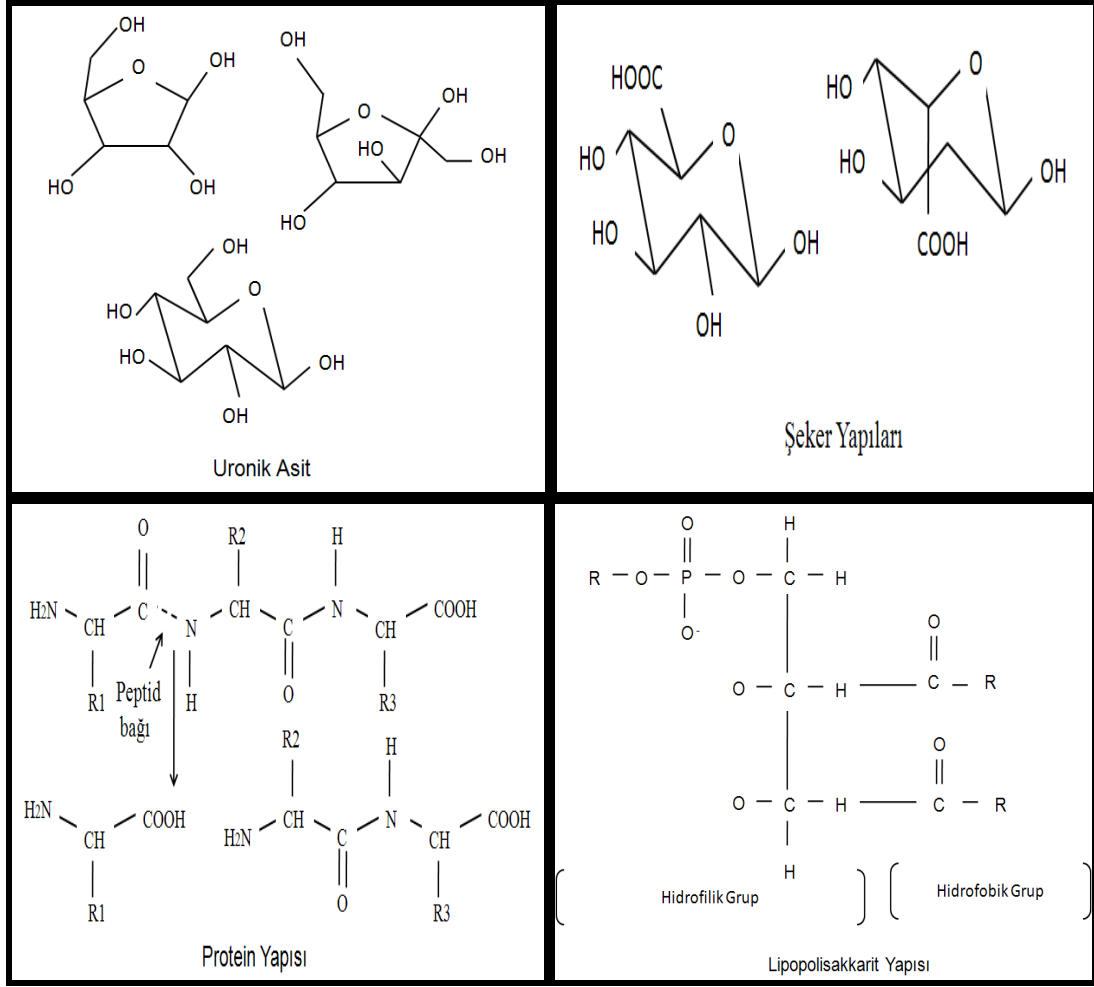
elementlerdir (Ör: Fe(III)). 3. Grup elementleri ise yüksek pH'larda bile stabil olmayan hidroksi komplekslere sahip değildir (Ör: Ca²⁺, Zn²⁺). Sudaki temel ligand OH⁻'tir. OH⁻'den başka diğer ligandlar sadece 3. Grup elementleriyle ve bazı 2. Grup elementleriyle birleşebilmektedirler. 1. grup elementleri ile birleşemezler. Krom 2. Grup elementlerinden biridir [29].

Sert ve yumuşak karakteristikler: Elementler yumuşaklık ve sertlik karakteristiklerine göre de sınıflandırılabilir. Alkali ve toprak alkali gibi sert kationlar iyonik ve elektrostatik reaksiyonlardan etkilenmektedir. Cu²⁺, Zn²⁺ ve Cd²⁺ gibi elementler ise kovalent bağlarla reaksiyona girmektedirler. Geçiş metalleri ise orta güçte kompleksler oluşturmaktadır. Krom bir geçiş elementi olduğundan dolayı bu özelliği taşımaktadır [29].

2.5. EKZOPOLİMERİK MADDE (EPS)

Son yıllarda yapılan çalışmalara göre bakteriler tarafından üretilen ekzopolimerik maddelerin de (EPS) metallerle çok güçlü bileşikler oluşturup, metallerin bitkiler tarafından alınmasından, biyoyararışlılığı ve yeraltı sistemlerinde taşınımına kadar birçok alanda etkili olduğu görülmüştür [4-8].

Mikroorganizmaların hücre çeperi içinde ve dışında bulunabilen EPS, mikroorganizmaların pH gibi değişen ortam koşullarına uyum sağlamak için ortama yaydıkları maddelerdir. EPS matriksi genelde 0,2-1 µm kalınlığındadır. EPS; nükleik ve uronik asitlerden (Şekil 2.9), polisakkaritlerden (Şekil 2.10) , proteinlerden (Şekil 2.11), glikoproteinlerden ve fosfolipidlerden (Şekil 2.12) oluşmaktadır [31].



Şekil 2.9. EPS içeriğinde bulunan uronik asit, şeker, protein ve lipopolisakkarit yapıları [32-34]

Hücre dışı proteinler, moleküler kütlesi 100kDa ve 200kDa arasında değişen maddelerdir. Bu bileşikler %40-60 hidrofobik amino asit içerirler. Genel olarak hücre dışı proteinlerde sülfirik amino asitler mevcuttur. *Sulfolobus acidocaldarius*'un ürettiği hücre dışı proteinlerde hidroksil grup içeren amino asitlere rastlanmıştır [31].

En yaygın hücre dışı karbonhidratlar ise asetat esterleri, piruvatlar ve formatlardır. EPS matriksinde polipeptidler, gram pozitif bakteri hücrelerinin yüzeyinin çok az bir kısmında mevcuttur.

Bakteriyel EPS'lerin çoğunluğunu farklı şeker türleri oluştururken, bazılarında tek tip şekerden oluşur. EPS'yi oluşturan şekerlerin çoğunluğu nötr olmasına rağmen bir çok bakteriyel EPS negatif yüklüdür [35]. Farklı türlerin ürettiği EPS'nin yapısında farklılıklar gözlenebilir [31].

EPS bileşenleri, içerdiği fonksiyonel gruplar nedeniyle önem arz etmektedir. Karboksilik gruplar, asidik EPS fonksiyonel gruplarının temelini oluşturmakta ve metallerle bileşik oluşturmada büyük rol üstlenmektedir [5, 16, 18]. Bazı çalışmalar ise mikrobiyal EPS'de mevcut fosfat fonksiyonel gruplarında karboksilik gruplar kadar metal bağlanmasında etkili olduğunu göstermektedir [19, 20].

2.5.1. Karbon/Azot Varlığının EPS Biyosentezine Etkisi

Mikrobiyal hücreler tarafından hücre dışı biyopolimerlerin sentezi kültür ortamında bulunan karbon ve azot varlığına bağlıdır. Hücre dışı polimer üreten mikroorganizmalar karbonhidratları karbon ve enerji kaynağı olarak, amonyum tuzlarını ve amino asitleri azot kaynağı olarak kullanmaktadırlar.

Genelde EPS üretimi, ortamdaki yüksek glikoz içeriğiyle artmaktadır. EPS moleküllerinin üretiminde en düşük katsayı, büyüme ortamında galaktoz ve ksiloz varlığında söz konusudur. Glukoz, fruktoz, mannoz, maltoz, ksiloz, riboz, arabinoz, sukroz ve laktoz gibi şeker türleri EPS'de mevcut olabilir ve bunlar toplam karbonhidrat içeriğinin %70'i kadar bile olabilmektedir.

Besi ortamındaki düşük azot içeriği hücre dışı biyopolimerlerin sentezini büyük ölçüde etkilemektedir. Besi ortamındaki sınırlı amonyum tuzu mevcudiyetinde, glukozun %60'ının *Pseudomonas spp.*, *Sinorhizobium spp.*, *Escherichia spp.* ve *Pseudomonas spp.* tarafından ekzopolisakkaritlere dönüştürüldüğü saptanmıştır. Ortamda yüksek miktarda azot varlığında ise mikrobiyal hücreler tarafından hücre dışı proteine dönüştürülmektedir. Yapılan bir çalışmada, *Pseudomonas spp.* ve *Rhodococcus spp.* hücrelerinin ortamında fazla miktarda amonyum tuzları bulunduğunda, hücre dışı protein biyosentezini arttırdığı gözlenmiştir [31].

2.5.2. Ortam pH'sının EPS Biyosentezine Etkisi

Ortamın pH değeri EPS molekül oluşumunu önemli ölçüde etkilemektedir. Bu parametre hücrelerin morfolojik değişimine neden olmaktadır. pH 2,0-3,0 veya $pH \geq 10$ 'da sadece hücre dışı polimer üretimi değil, mikrobiyal büyüme de durmaktadır. EPS sentezi için optimum pH, 5,5 ve 6,5'dir.

Büyüme ortamının pH'sı, EPS molekülleri üretimini etkileyebilir. Bir çalışmada, hücre dışı bileşenlerin en fazla pH 5,0'de sentezlendiği saptanmıştır. pH'daki artma veya azalma da EPS sentezini yavaşlatabilmektedir [31].

2.5.3. Ortam Sıcaklığının EPS Biyosentezine Etkisi

EPS moleküllerinin sentezi için optimal ortam sıcaklığı 26-31 °C arasındadır. Ayrıca EPS bileşenleri üretiminde optimizasyon için sıcaklık önemlidir. Bir çalışmada, 10 °C'ın altındaki ortam sıcaklığında mikrobiyal hücreler tarafından ekzopolisakkarit üretiminin yavaşladığını saptamıştır [31].

2.5.4. Büyüme Fazı

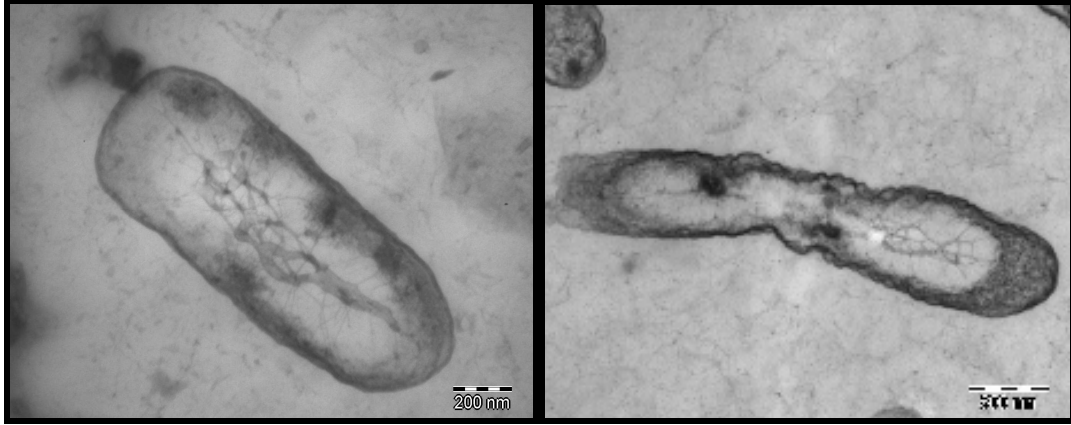
Mikrobiyal büyüme döngüsünün durumu ve EPS üretimi arasında doğrudan ilişki mevcuttur. *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus epidermidis* türlerinin kullanıldığı bir çalışmada en yüksek EPS molekülü üretiminin, mikrobiyal büyümenin logaritmik artış fazından sonra, durağan fazdan önce olduğu saptanmıştır. Üssel olarak artışın gözlemlendiği büyüme fazının durması, mikrobiyal hücre yüzeyinin bütünlüğünün azalmasına neden olmaktadır. Bu proses, mikroorganizmalar tarafından EPS molekülü üretiminin azalmasına, hatta yok olmasına sebebiyet vermektedir [31].

2.5.5. Ortamdaki Toksik Kimyasalların EPS Biyosentezine Etkisi

Mikroorganizmalar toksik çevreye karşı kendilerini korumak için EPS üretmektedirler. EPS, hücreler için dış etkenlere karşı koruyucu bir tabakadır. Bir çalışmada, bakteriler toksik kimyasalları maruz kaldıklarında, hücrelerindeki karbonhidrat, protein ve nükleik asit miktarlarında artış görüldüğü saptanmıştır. Mikroorganizmaların yüksek miktardaki toksik maddelerle başa çıkabilmesi için, birçok yol mevcuttur. Hücre yüzeyi ağır metalleri biriktirmekte veya EPS hücre duvarının dışında jel benzeri bir yapı olarak, toksik maddelerin zararlı etkilerini azaltan kimyasal reaksiyonlar tarafından veya sınırlandırılmış difüzyon aracılığı ile toksik maddeleri engellemektedir. EPS protein, karbonhidrat ve nükleik asit içeriğine bağlı olarak bulundurduğu karboksil, fosforil ve sulfat gruplarıyla metalleri bağlayıcı özelliğe sahiptir. Bu nedenle ortamda toksik metal artışına bağlı olarak, buna direnç göstermek isteyen bakteri daha fazla EPS üretmektedir [13].

Kılıç ve Dönmez [11], *P. aeruginosa*, *Micrococcus sp.* ve *Ochrobactrum sp.* türlerinin, ortamda Cr(VI) konsantrasyonunun artışına bağlı olarak daha fazla EPS ürettiklerini saptamışlardır. Aquino ve Stuckey [14] sisteme Cr(VI) verildikten sonra,

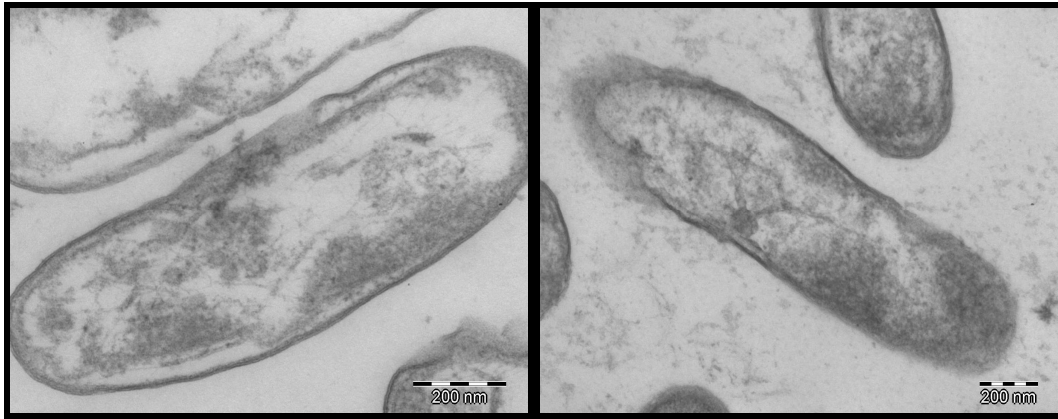
EPS miktarında %30'a yakın, protein miktarında %45'e yakın, karbonhidrat miktarında %300'e yakın, DNA miktarında ise %50'ye yakın artış gözlemlenmiştir. Şekil 2.13 ve 2.14'te, *P. aeruginosa* P16 ve *P. putida* P18 bakterilerinin ortamda Cr(VI) mevcudiyetinde verdiği tepki açık bir şekilde görülmektedir.



(a)

(b)

Şekil 2.10. *P. aeruginosa* P16 hücrelerine ait transmisyon elektron mikroskopu (TEM) görüntüsü; (a) ortamda Cr(VI) mevcut değil (b) ortamda Cr(VI) mevcut [36]



(a)

(b)

Şekil 2.11. *P. putida* P18 hücrelerine ait transmisyon elektron mikroskopu (TEM) görüntüsü; (a) ortamda Cr(VI) mevcut değil (b) ortamda Cr(VI) mevcut [36]

2.6. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Shirvani ve ark. [37], paligorskit, sepiyolit ve kalsit üzerine kadmiyum sorpsiyonunu organik ligandlar varlığında inceledikleri bir çalışma yapmışlardır. Langmuir ve Freundlich modellerini sonuçlara uyarlamak amacıyla sorpsiyon kinetik deneyleri yapmışlardır. Çalışmada öncelikle BET N₂ yöntemiyle minerallerin yüzey alanı, amonyum asetat yöntemiyle de katyon değişim kapasiteleri belirlenmiştir. Mineraller arasında en fazla yüzey alanına ve katyon değiştirme kapasitesine sahip olanın paligorskit olduğu belirlenmiştir. Kadmiyum sağlayıcı kimyasal madde olarak CdCl₂.2H₂O, organik ligandlar olarak da CH₃COONa.3H₂O ve C₆H₅Na₃O₇.2H₂O kullanılmıştır. Kesikli adsorpsiyon testleri, pH 7,5'den, 8,1'e kadar değişen pH aralıklarında, 400 µM'dan 4mM'a kadar değişen başlangıç metal konsantrasyonlarında, katı sıvı oranı kil mineralleri için 1/100 ve kalsit için 5/100 olacak şekilde yürütülmüştür. Çalışmaya göre, örnekler bir gün boyunca 160 rpm'de çalkalandıktan sonra son pH'ları belirlenmiş, katı sıvı ayırımından sonra AAS'de Cd analizleri yapılmıştır. Yapılan modelleme sonucu kadmiyumun paligorskite adsorpsiyonu Langmuir ($r^2 = 0,988$), sepiyolite adsorpsiyonu Freundlich ($r^2 = 0,978$), kalsite adsorpsiyonu ise Langmuir ($r^2 = 0,995$) izotermiyle açıklanmıştır. Minerallerin kadmiyuma olan adsorpsiyon ilgisi sepiyolit > paligorskit > kalsit olarak saptanmıştır. Aynı deneyler organik ligand varlığında da gerçekleştirilmiştir ve elde edilen sonuçlar; asetat ve sitrat varlığında kadmiyum sorpsiyonunun azaldığı yönündedir.

Kantar ve ark. [38] bir çalışmasında, EPS'nin yapısında bulunan galaktronik, glukronik ve alginik asitin toprakta Cr(VI) taşınımı üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Mersin bölgesinden alınan toprak örneği üzerinde gerçekleştirilen araştırmada, kesikli sorpsiyon ve kolon deneyleri yapılarak, bu organik ligandların Cr(VI) ile girdiği etkileşim açıklanmaya çalışılmıştır. Kesikli adsorpsiyon deneyleri, öncelikle farklı pH'larda, farklı toprak ve farklı Cr(VI) konsantrasyonlarında, iyonik gücün 0,01 M olarak sabit tutulduğu koşullarda gerçekleştirilmiştir. Daha sonra bu

deneyler organik ligandlar olan galaktronik, glukronik ve alginik asitin farklı konsantrasyonları denenerek gerçekleştirilmiştir. Adsorpsiyon deneylerini desteklemek adına gerçekleştirilen kolon deneylerinde ise adsorpsiyon deneylerine paralel olarak 0,01 M iyonik güçte, pH 7,6 ve 7,9'da çalışılmış, yine farklı Cr(VI) ve farklı organik ligand konsantrasyonları denenmiştir. Sonuç olarak, artan toprak konsantrasyonu ile kromun adsorbe olduğu site sayısının artması nedeniyle, daha yüksek oranda adsorpsiyon olduğu, pH arttıkça, Cr(VI) adsorpsiyonunun azaldığı, organik asit varlığında da adsorpsiyonunun azaldığı, Cr(VI)'nın toprakta kalma süresinin arttığı vurgulanmıştır.

Aquino ve Stuckey [14], anaerobik ortamda toksik bileşenler varlığında oluşan çözünabilir mikrobiyal ürün oluşumu üzerine yaptıkları bir çalışmada, besin olarak glikozun kullanıldığı bir anaerobik ortama krom ve kloroform verilmek suretiyle denemeler yapmış ve toksik maddelerin çözünabilir organik bileşenlerin oluşumu üzerindeki etkileri araştırmışlardır. Sürekli reaktörün kullanıldığı araştırma sonucunda, Cr(VI) ve kloroformun sistemdeki artışıyla çözünabilir mikrobiyal maddelerin arttığı gözlenmiştir. Bu mikrobiyal ürünlerin, EPS ve bir kısım parçalanmış hücre olduğu vurgulanmaktadır. Sisteme kloroform verildikten sonra, EPS miktarında %800'e yakın, protein ve karbonhidrat miktarında %60'a yakın, DNA miktarında ise %10'a yakın bir artışın gözlemlendiği çalışmada, sisteme Cr(VI) verildikten sonra ise, EPS miktarında %30'a yakın, protein miktarında %45'e yakın, karbonhidrat miktarında %300'e yakın, DNA miktarında ise %50'ye yakın artışlar gözlenmiştir. Sisteme Cr(VI) ve kloroformun birlikte verilmesi durumunda ise, daha fazla strese giren mikroorganizmaların daha fazla EPS ürettiği saptanmıştır.

Kılıç ve Dönmez [11], *P. aeruginosa*, *Micrococcus sp.* ve *Ochrobactrum sp.* türleri üzerinde yaptıkları bir çalışmada, çevresel koşulların EPS üretimi üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmalarını, bakteri besiyerlerini pH 7, 8 ve 9 olmak üzere, 50-300 mg/L başlangıç Cr(VI) konsantrasyonlarında, 48 saatlik inkübasyon süresinde, 20, 30 ve 40 °C'ta gerçekleştirmişlerdir. Daha sonra 72 ve 96 saatlik

inkübasyon sürelerinde çalışmışlardır. EPS izolasyonunu Cérantola ve ark. önerdiği şekilde gerçekleştirerek, EPS' de bulunan şeker ve protein içeriğini belirlemişlerdir. Çalışmada sonuç olarak, *P. aeruginosa*, *Micrococcus sp.* için maksimum EPS üretiminin pH arttıkça azaldığı, *Ochrobactrum sp.* için pH 7'de en az EPS üretiminin olduğu, *P. aeruginosa* için 20 °C'ta 50 ppm başlangıç Cr(VI) konsantrasyonunda (pH=7), *Micrococcus sp.* için 20 °C'ta 100 ppm başlangıç Cr(VI) konsantrasyonunda (pH=7), *Ochrobactrum sp.* için 30 °C'ta 150 ppm başlangıç Cr(VI) konsantrasyonunda (pH=8) maksimum EPS üretimi olmuştur. Maksimum EPS üretimi için gereken Cr(VI) konsantrasyonun üzerine çıkıldıkça, EPS üretiminde azalma gözlenmiştir. İnkübasyon süresinin etkisine bakıldığında ise EPS üretiminde, *P. aeruginosa* için 96 saat boyunca hızlı bir artış, *Micrococcus sp.* için 72. saate kadar yavaş bir artış, daha sonra azalış, *Ochrobactrum sp.* için sürekli azalış gözlenmiştir. Bu türlerin sularda Cr(VI) gideriminde kullanılabileceği vurgulanmıştır.

Salehizadehve ve Shojaosadati [39], yaptıkları bir çalışmada, *Bacillus firmus*'dan izole edilen polisakkaritlere sulu çözeltilerdeki Zn, Cu ve Pb'nun adsorpsiyonunu incelemişlerdir. EPS içeriğinin büyük bir kısmının şeker türlerinden oluştuğunu ve bol miktarda uronik asit içerdiğini saptamışlardır. pH, başlangıç metal ve polisakkarit konsantrasyonunun etkileri üzerine çalışmışlardır. Sonuç olarak, optimum pH < 4-6 arasındaki pH değerleri olarak belirlenmiş, doğal pH'larda ise metal giderim verimleri sırasıyla Pb, Cu ve Zn için, %43,6, %20,6 ve %1,1 olarak belirlenmiştir. 1000 ppm başlangıç metal konsantrasyonun sabit tutulduğu zamana bağlı adsorpsiyon denemelerinde, yaklaşık ilk 5-10 dakika içinde adsorpsiyonun hızlı olduğu, polisakkarit başına adsorplanan metal iyonu olarak en yüksek verimin Pb için, en düşük verimin ise Zn için olduğu saptanmıştır. Çalışmada polisakkarit konsantrasyonu arttıkça adsorbe edilen metal miktarının arttığı vurgulanmıştır. Çalışmada fiziksel model olarak, Freundlich modeli kullanmış ve korelasyon katsayıları (R^2) Pb, Cu ve Zn için sırasıyla 0,95, 0,94 ve 0,93 olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak *Bacillus firmus*'tan izole edilen EPS'nin iyi bir biyosorbent olduğu ve metal gideriminde kullanılabileceği vurgulanmıştır.

Bhaskar ve Narayan [40], metal bağlama kapasitesi ve deniz besin zincirindeki kirleticileri akümüle edebilmesi nedeniyle *Marinobacter* türlerinden birinden izole edilen EPS'yi kullanarak bir çalışma sunmuşlardır. EPS'nin Pb(II) ve Cu(II) iyonlarının bağlanma kapasitelerini belirlemek için, farklı başlangıç metal konsantrasyonu, farklı inkübasyon süresi, farklı pH ve NaCl konsantrasyonları gibi parametreler çalışılmıştır. Çalışmada 40 mM Cu(II) ve 100 mM Pb(II) iyonlarının 120. dakikada Cu için, 334 ± 6 µg /mg EPS, Pb için, 70 ± 7 µg /mg EPS olmak üzere maksimum adsorpsiyon sağlanmıştır. 120. dakikadan sonra adsorpsiyonda azalma gözlenmiştir. Çalışmada maksimum başlangıç metal konsantrasyonu 200 ppm olup, bu konsantrasyonda en yüksek bağlanma kapasitesine ulaşılmıştır. Her iki metal içinde doğal pH'larda bağlanma kapasitesinin asidik pH'lara göre daha fazla olduğu belirlenmiş, Cu iyonu için bağlanmanın pH 4,5'ta 139 ± 6 , pH 7'de 193 µg/mg EPS olarak, Pb iyonu için pH 4,5'te 146 ± 7 µg/mg EPS, pH 7'de 219 ± 2 µg/mg EPS olarak bulunmuştur. Çalışmada ayrıca NaCl'un etkisi de incelenmiş ve tuz yüzdesinin artmasıyla, her iki metal iyonu içinde adsorpsiyonun azaldığı bulunmuştur. Sonuç olarak *Marinobacter* türüne ait EPS'nin metal bağlama kapasitesi nedeniyle, besin zincirindeki metal kontaminasyonunu belirlemede önemli bir basamak olacağı vurgulanmıştır.

Kang ve ark. [41] bir çalışmasında, *Pseudomonas aeruginosa* hücre yüzeyine Cr(III) ve Cr(VI)'nın adsorpsiyonun incelemiştir. Bir gram-negatif bakteri olan *Pseudomonas aeruginosa*'nın hücre duvarı analiz edilmiş ve peptidoglikan ve tekoik asit içerdiği ve bu oluşumlara bağlı olarak karboksil, fosforil, hidroksil ve amino foksiyonel gruplarını bulunduğu saptanmıştır. *P. aeruginosa*'nın metal biyosorpsiyonun anlaşılması için öncelikle potansiyometrik titrasyon deneyleri yapılmış ve reaksiyonlara girecek esas iki gurubun hidroksil ve karboksil grupları olduğu ve bunlara bağlı reaksiyon ve denge sabitleri pKa: 5,2 (karboksil grupları için

$4 < pK_a < 6$), pK_b : 9,5 (hidroksil grupları için $9 < pK_a < 11$) FITEQL 4.0 yazılımı kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca FT-IR analizleriyle de krom iyonlarının yüzeydeki karboksil ve amin gruplarına bağlandığı kanıtlanmıştır. Çalışmada biyosorpsiyon deneyleri her iki metal iyonu için 0-5 mmol/L başlangıç metal konsantrasyonlarında yürütülmüş ve Cr(III) adsorpsiyonu Langmuir izoterm modeliyle, Cr(VI) adsorpsiyonu ise Freundlich modeli ile açıklanmıştır. Sonuç olarak bu modellerin kullanılması suretiyle *Pseudomonas aeruginosa*'nın atıksulardaki krom kontaminasyonunu giderici biyolojik bir ajan olarak kullanılabilceği vurgulanmıştır.

Guibaud ve ark. [19], bakteri kültüründen saflaştırarak elde ettikleri ve aktif çamurdan izole ettikleri EPS'lerin kadmiyum, kurşun ve nikelin kompleksleşme potansiyelleri arasındaki farkları karşılaştırmak suretiyle bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Bakteri kültüründen izole edilen EPS'nin çoğunluğunun proteinlerden oluştuğu ve aktif çamurdan elde edilen EPS'lere göre daha az polisakkarit ve uronik asit içerdiği saptanmıştır. Ayrıca aktif çamurdan elde edilen EPS'de humik asitlere rastlanmış, diğerinde mevcut olmadığı görülmüştür. Her iki EPS türünde yapılan FT-IR analiz sonuçlarının neredeyse benzer olduğu vurgulanmış sadece içerikte bulunan madde miktarlarının farklılığından söz edilmiştir. Yüzey fonksiyonel gruplarının saptanması için potansiyometrik titrasyon deneyleri sonucunda saf kültürden izole edilen EPS türlerinin pK_{a1} değerleri 6,8-8,0 aralığında, aktif çamurdan izole edilen EPS için 6,2 olarak bulunmuştur. pK_{a2} değerleri ise aktif çamur EPS'si için 8,6, saf kültür EPS'si için 9,7-10,1 aralığında bulunmuştur. Çalışmada pH 7'de yürütülen metal kompleksleşmesi deneyleri sonucunda ise aktif çamurdan izole edilen EPS'nin saf kültürden izole edilen EPS'ye göre çok daha fazla kompleks yapıcı site içerdiği saptanmış ve kompleksleşme ilgisi sıralaması $Pb > Ni > Cd$ olarak verilmiştir. Sonuç olarak aktif çamurdan izole edilen EPS'nin saf kültürden izole edilen EPS'ye göre metal bağlama kapasitesinin daha fazla olduğu vurgulanmıştır.

Clace ve ark. [42] farklı molekül ağırlıklı organik maddelerin toprakta ağır metal sorpsiyonuna etkilerini gösteren bir çalışma yapmışlardır. Evsel atık suyla eski ve yeni kirliliğin olduğu bir arazide yapılan çalışmada Cu ve Cd iyonlarının sorpsiyonu incelenmiştir. Eski kirlenmenin olduğu arazide molekül ağırlığı değişiklik gösteren birçok organik madde bulunmuş ve humik maddelerde olduğu gibi moleküler ağırlığı çok yüksek maddelere rastlanmıştır. Yeni kirlenmiş topraklarda ise çoğunluğu düşük molekül ağırlıklı organik maddelerin varlığından söz edilmiştir. Kesikli sorpsiyon testleri sonucunda organik maddeler üzerine adsorpsiyonun Langmuir eşitliğine uygun ve Giles sınıflandırmasına göre H-tipi model olduğu belirlenmiştir. Kil minerallerine adsorpsiyon ise Freundlich modeli ile açıklanmıştır. Bu çalışmada sonuç olarak; bakırın düşük ve yüksek moleküler ağırlıklı organiklerle stabil kompleksler oluşturduğu, kadmiyumun ise sadece yüksek molekül ağırlıklı organik maddelerle etkileşime girdiği vurgulanmış ve bunun üzerine kurulacak bir sistemde bu özelliklerin de göz önünde bulundurulması gerektiği önerilmiştir.

Borrok ve Fein [43] yaptıkları bir çalışmada, iyonik gücün proton, Pb, Cd ve Sr adsorpsiyonu üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Bunun için gram negatif bakteriler olan *Pseudomonas mendocina* and *Pseudomonas putida* kullanarak yaptıkları çalışmada, bakteri yüzeyine sorpsiyonu, elektrostatik olmayan ve üç tabakalı elektrostatik modelleriyle açıklamışlardır. Farklı iyonik güçte (0.01-0.5 M) yürütülen potansiyometrik titrasyon deneyleri referans alınarak yapılan modelleme çalışmalarında, elektrostatik olmayan modellemeye göre; iyonik gücün metal bağlama kapasitesi üzerinde çok az bir etkisinin vurgulanmıştır. Toplam site yoğunluğunun ise *P. putida* için %40, *P. mendocina* için %20 iyonik güçle doğru orantılı olarak arttığı da çalışmada bulunun bir sonuçtur. Aynı şekilde 0,01-0,5 M iyonik güçte yürütülen adsorpsiyon çalışmalarında ise *P. putida* tarafından gerçekleştirilen maksimum Pb adsorpsiyonu 0,1 iyonik güçte pH 5,5-6 arasında sağlanmıştır. *P. mendocina* tarafından gerçekleştirilen adsorpsiyon ise diğer iyonik şiddetlerden açık ara farkla 0,1 M iyonik şiddette pH 5,5-6 arasında sağlanmıştır. Kadmiyum ve stransiyum adsorpsiyonunda ise her iki bakteri türü için iyonik şiddet

arttıkça adsorbe edilen metal miktarlarının azaldığı gözlenmiştir. Bu veriler dahilinde sonuç olarak; Cd ve Pb'nun bakteri yüzeyi ile çok güçlü bir kimyasal bağ (iç küre kompleks), Sr'un ise zayıf bir bağ (dış küre kompleks) yaptığı belirlenmiştir.

Puzon ve ark. [6], hücrel organik madde varlığında kromat indirgenmesinden sonra oluşan organo-Cr(III) komplekslerinin çözünürlükleri araştırdıkları bir çalışma yapmışlardır. *Escherichia coli* hücrelerinin ve 200 µM Cr(VI)'nın kullanıldığı deneyde bir gün sonunda Cr(VI)'nın tamamen indirgenmediği gözlenmiştir. Ortamda Na₂S₂O₄ varlığında ise ani bir şekilde indirgenme olduğunu saptayan araştırmacılar, oluşan mevcut organik madde-Cr(III) komplekslerinin ICP-MS analizleriyle glisin-Cr(III), laktat-Cr(III), asetat-Cr(III), etanol-Cr(III), fumarat-Cr(III), tirozin-Cr(III), okzaloasetat-Cr(III) ve serin-Cr(III) olduğu vurgulamışlardır. Bu bileşiklerin de suda çözüldüğü belirtmişlerdir.

Puzon ve ark. [44] bir çalışmada, organo-Cr(III) komplekslerinin topraktaki mobilitesini incelemişlerdir. Cr(VI) sağlayıcısı kimyasal olarak K₂Cr₂O₇'ın kullanıldığı deneylerde Cr(VI) konsantrasyonu spektrofotometrik olarak difenil karbazit yöntemiyle, toplam krom ise ICP-MS ile analiz etmişlerdir. Organo-Cr(III) kompleksleri olarak ise sitrat-Cr(III), histidin-Cr(III) ve malat-Cr(III) komplekslerinin kullanıldığı çalışma kolon deneyleri esası üzerine kurulmuştur. Toprak kolonunun, HPLC kolonuna (1x15 cm) monte edildiği çalışmada, tanecik boyutu 0,05 mm, porozitesi 0,29, kuru yoğunluğu 1,89 g/cm³ olan siltli kum kullanılmıştır. Bromürün inert izleyici olarak kullanıldığı çalışmada, organo-Cr(III) kompleksleri 0,37 mL/h debide kolona verilmiştir. Çalışma sonucunda organo-Cr(III) komplekslerinin literatürde belirtilen diğer metal-organik kompleksleri gibi toprak kolonunda hareketli olduğu saptanmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. MATERYAL

3.1.1. Araştırmada Kullanılan Malzemeler

3.1.1.1. Toprak rneği

Araştırmada kullanılan toprak rneği, Mersin-Fındıkpınarı Kuzucu mevkiinden, Jackson [45] tarafından bildirildiği Şekilde toprağın 0-25 cm derinliğinden alınmıştır. Coğrafi Yer Konumlandırma (GPS) cihazı ile belirlenen örnek alma noktasının koordinatları 36 ° 50 3 kuzey ve 34 ° 24 3 doğu ve denizden yüksekliği 704 m'dir.

3.1.1.2. Ekzopolimerik madde

Araştırmada, 105 Y 272 no'lu TÜBİTAK projesi kapsamında üretilen, *Pseudomonas putida* P18 ve *Pseudomonas aeruginosa* P16 suşlarının ekzopolimerik maddeler, (EPS) Hung ve ark. [16] tarafından belirtilen metoda göre saflaştırılmıştır.

3.1.1.3. Krom(III) tuzu

Araştırmada Cr(III) sağlayıcısı kimyasal madde olarak, Merck $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ tuzu kullanılmıştır.

3.1.1.4. İyon değiştirici reçine

Araştırmada, Dowex 50WX8 katyon tipi iyon değiştirici reçine kullanılmıştır.

3.1.2. Araştırmada Kullanılan Cihazlar

3.1.2.1. UV-Visible spektrofotometre

EPS karakterizasyonunu belirlemek için yapılan deneylerde toplam şeker, toplam protein, toplam uronik asit konsantrasyonlarını belirlemek için Shimadzu UV- 160 A marka UV-Visible spektrofotometre kullanılmıştır.

3.1.2.2. ICP-MS

EPS karakterizasyonu deneyleri sırasında PO_4-P 'nu saptamak ve toplam Cr analizlerini yapmak için Agilent 7500ce marka ICP-MS kullanılmıştır.

3.2. METOT

3.2.1. Araştırmada Kullanılan Toprağın Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

Bu özellikler 105 Y 272 no'lu TÜBİTAK projesi kapsamında bulunmuştur [36].

3.2.1.1. Nem

Toprak örnekleri kurutma fırınında (etüvde) $105^{\circ}C$ 'de sabit ağırlığa gelinceye kadar 48 saat kurutularak hesaplanmıştır. Geride kalan kütle, fırın kurusu toprak kütlesi olarak ifade edilmiştir [46].

3.2.1.2. Suya doygunluk (Saturasyon)

Richards [47] tarafından bildirildiği şekilde toprağa doyuncaya kadar saf su ilave edilerek tayin edilmiştir.

3.2.1.3. Toplam tuz

Saturasyon ekstraktındaki iletkenliğin, (iletkenlik ölçer) kondaktivimetre ile ölçülmesiyle bulunmuş ve % olarak ifade edilmiştir [48].

3.2.1.4. Toprak reaksiyonu

Richards [47] tarafından bildirildiği şekilde hazırlanan suyla doygun toprakta, cam elektrotlu pH metre ile tayin edilmiştir.

3.2.1.5. Kireç (CaCO₃)

Kacar [46] tarafından ifade edildiği şekilde Scheibler kalsimetresi ile tayin edilerek % olarak ifade edilmiştir.

3.2.1.6. Organik madde

Kacar [46] tarafından bildirildiği şekilde modifiye Walkley-Black yöntemine göre tayin edilerek, sonuçlar % olarak ifade edilmiştir.

3.2.1.7. Toplam karbon

Toplam organik maddenin %58'inin organik karbondan oluştuğu varsayımıyla, organik maddenin 1,72'ye oranından hesaplanmıştır [46].

3.2.1.8. Alınabilir fosfor

Olsen ve ark. [49] tarafından geliştirilen metoda göre 0,5 M sodyum bikarbonat (pH=8,5) ile ekstrakt edilerek tayin edilmiştir. Sonuç kg/da olarak birimlendirilmiştir.

3.2.1.9. Alınabilir potasyum

Richards [47] tarafından bildirildiği gibi ekstrakt çözeltisi olarak 1 N NH₄OAc (pH 7,0) kullanılmış ve çözeltiye geçen potasyum alev fotometresi ile okunmuş ve kg/da olarak belirlenmiştir.

3.2.1.10. Katyon değiştirme kapasitesi (KDK)

Kacar [46]'a göre sodyum asetat metoduna göre me/100 g olarak belirlenmiştir [46].

3.2.1.11. Toplam Cr analizi

Toprağın toplam Cr konsantrasyonu EPA 3050B metoduna göre ekstrakte edilip EPA 7190 metoduna göre ICP-MS ile belirlenmiştir [50].

3.2.1.12. Cr (VI) analizi

Toprağın Cr(VI) konsantrasyonu EPA 3060A metoduna göre ekstrakte edilip EPA 7196A metoduna göre analiz edilmiştir [50].

3.2.1.13. Suda çözünebilir Cr (VI) analizi

DIN 38414-S4 metoduna göre 1:10 toprak:çözelti oranında 48 saat 230 rpm'de çalkalanan ve santifüj edilen süzükte (aliquot) difenil karbazid metoduna göre belirlenmiştir [51].

3.2.1.14. Spesifik yüzey alanı (EGME Yöntemi)

Carter ve ark. [52] tarafından belirtilen etilen glikol mono etil eter (EGME) yöntemine göre belirlenmiştir.

3.2.1.15. Tekstür (Bünye)

Toprakların kum, silt ve kil fraksiyonları Bouyoucus [53] tarafından bildirildiği şekilde hidrometre yöntemi kullanılarak yapılmış ve sonuçlar % olarak ifade edilmiştir. Toprağın tekstür sınıfı, tekstür üçgeninden yararlanarak tespit edilmiştir.

3.2.1.16. Geçirgenlik analizi

Sabit su seviyeli permeabilite setinde toprağın su geçirme (hidrolik iletkenlik) özelliği ölçülmüştür [48].

3.2.1.17. Kimyasal bileşenlerinin belirlenmesi

Toprağın SiO₂, Al₂O₃, Fe₂O₃ ve diğer kimyasal bileşenleri Trakya Cam A.Ş.'de XRF RIGAKU RIX 2000 marka ve model X-Ray Floresans cihazı ile belirlenmiştir.

3.2.2. EPS Saflaştırma

EPS, 105 Y 272 no'lu TÜBİTAK projesi kapsamında, Hung ve ark. [16] tarafından geliştirilen metoda göre saflaştırılmıştır. Bunun için, soy broth besiyerinde inkübe edilen bakteri örnekleri santrifujlenerek, supernatant kısmı alınmıştır. Bu kısım üzerine 0,5 mg/L proteinaz K ilave edilerek inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda %95'lik etanol ve %95'lik metanol ile karıştırılarak buzdolabında bekletilmiştir. Oluşan presipitat 0,22 µm millipor membran filtre yardımı ile toplanmıştır ve bu işlem 3 kere tekrar edildikten sonra 5 gün boyunca diyalizlenen örnekler, liyofilize edilmiştir [36].

3.2.3. EPS Karakterizasyonu

3.2.3.1. Toplam şeker miktarının belirlenmesi

Southgate [54] tarafından bildirilen Fenol-Sülfürik Asit Metodu'na göre; 1 mL örnek üzerine önce %5'lik 1 mL fenol, sonra hızlı bir şekilde 5 mL derişik sülfürik asit ilave edilerek çalkalanmıştır. Oda sıcaklığına gelene kadar soğutulmuştur. EPS örnekleri glukoz esas alınarak hazırlanan standart eğri aracılığı ile 488 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir.

3.2.3.2. Toplam protein miktarının belirlenmesi

Hartree [55] tarafından bildirilen Modifiye LOWRY Metodu'na göre; 1 mL EPS çözeltisi 10 dakika 50 °C'de su banyosunda bekletip, üzerine 0,9 mL sodyum-potasyum tartarat- NaCO₃ reaktifi eklenerek tekrar 50 °C'de su banyosunda 10 dakika süreyle bekletilmiştir. Oda sıcaklığına kadar soğumaya bırakılan örnekler soğuduktan sonra üzerlerine 0,1 mL sodyum-potasyum tartarat-CuSO₄.5H₂O reaktifi eklenmiş ve homojen bir karışım elde etmek için vorteks aracılığı ile çalkalanmıştır. 3 mL Folin-Ciocolteu reaktifi ilave edilip, karıştırıldıktan sonra 50 °C su banyosunda 10 dakika bekletilmiştir. Örnekler oda sıcaklığına gelinceye kadar karanlık bir ortamda muhafaza edilmiştir. Bovine Serum Albumine (BSA) ile oluşturulan standart eğri aracılığı ile 650 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir.

3.2.3.3. Toplam uronik asit miktarının belirlenmesi

Hung ve ark. [16] ve Hung ve Santchia [56] tarafından bildirilen Spektrofotometrik Toplam Uronik Asit Belirleme Metodu'na göre; yaklaşık 0.5-1.0 mg donmuş-kuru EPS numunesi 0.4 mL deiyonize su bulunan bir vialle konup, üzerine 2 M sulfamik asitten 40 µL ve derişik sülfürik asit içerisinde bulunan 75 mM sodyum tetraborattan 2.4 mL vialle eklenmiştir. 100 °C sıcaklığındaki su banyosunda 10 dakika ısıtıldıktan sonra soğutulup, %15'lik 30 µL m-hidroksifenil eklenmiştir. 525 nm dalga boyunda glukuronik asit ile oluşturulan standart eğri aracılığı ile spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir.

3.2.3.4. Toplam PO₄-P miktarının belirlenmesi

EPS'lerin fosfor içeriklerini belirlemek için değişik konsantrasyonlarda EPS numuneleri hazırlanmış ve bu numulerdeki PO₄-P'u miktarları ICP-MS cihazı ile belirlenmiştir. ICP-MS'te fosfor için dedeksiyon limiti $6,7 \times 10^{-8}$ M olarak belirlenmiştir.

3.2.4. Potansiyometrik Titrasyon Deneşleri

İki ayrı bakteri kültüründen izole edilen EPS (*P. aeruginosa* P16, *P. putida* P18) için potansiyometrik titrasyon eğrileri oda sıcaklığında (24 ± 2 °C) SCHOTT marka otomatik titratör kullanılarak yapılmıştır. Titrasyon çözeltisinin CO₂ bakımından serbest olması için çözeltilere deney süresinde azot (N₂) gazı verilmiştir. Deneşlerde titrant olarak 0,1 M NaOH çözeltisi kullanılmış ve bu çözeltinin gerçek molaritesi potasyum hidrojen fitalat ile önceden kontrol edilmiştir. Titrasyonlarda iyonik şiddet, gerekli miktarda NaCl'ün çözeltilere eklenmesi ile sağlanmıştır. Deneşler 0,01 ve 0,1 M NaCl kullanılmak suretiyle iki ayrı iyonik güçte yapılmıştır.

Deneyleerde toplam titrasyon çözeltili hacmi 50 mL olarak tutulmuştur. Titrasyon çözeltilerinde toplam EPS konsantrasyonları, *P. putida* P18'den izole edilen EPS için 385 mg/L ve *P. aeruginosa* P16'dan elde edilen EPS için 397,5 mg/L olarak tutulmuş ve çözeltiler başlangıç pH'sı olan 3,8'den pH 11,3'e kadar 0,1 M NaOH eklenerek titre edilmiştir.

3.2.5. İyon Değişimi Deneyleeri

Cr(III)-EPS komplekslerinin reaksiyon stokiyometrileri ve bu reaksiyonların oluşum denge (kararlılık) sabitlerinin hesaplanması için kesikli iyon değişimi deneyleeri yapılmıştır. Bütün iyon değişim deneyleeri 50 ml'lik Oak Ridge santrifüj tüplerinde, 0,01 M NaCl çözeltilisinde, oda sıcaklığında (24 ± 2 °C) ve pH 4'te yapılmıştır. Bütün iyon değişimi deneyleerinde çözeltili hacmi 30 mL olarak belirlenmiş ve çözeltili pH'ları 0,1 M NaOH veya HCl kullanılarak istenilen değere ayarlanmıştır. Deneyleer iki ayrı aşamada gerçekleştirilmiştir. 1. aşamada Cr(III)'ün reçine yüzeyine tutunma katsayısı, EPS'siz ve sabit bir pH 4 değerinde, izoterm deneyleeri yardımıyla belirlenmiştir. Bu deneyleerde, değişik konsantrasyonlarda reçine (0,08 g/l - 0,9 g/L) ve krom (10^{-6} M - 10^{-4} M) kullanılmıştır [5]. Deneyle tüpleri 48 saat boyunca 175 rpm'de bir çalkalayıcı üzerinde çalkalanarak dengeye gelmeleri sağlanmış ve 48 saat sonunda örneklerin son pH'ları kaydedilmiştir. Deneyle tüplerindeki reçinenin tabana çökmesi için bir süre beklenmiş ve çözeltiliden 5mL numune alınarak, sulu çözeltilide kalan krom konsantrasyonları ICP-MS (Agilent 7500ce) analiziyle belirlenmiştir. Ölçülen bu değer, tüplere eklenen toplam krom konsantrasyonundan çıkarılmış ve bu sayede reçineye tutunan krom konsantrasyonu saptanmıştır. ICP-MS cihazının Cr için en düşük analiz limiti $4,62 \times 10^{-10}$ M olarak belirlenmiştir.

İkinci aşamada yapılan deneyleerde ise Cr (10^{-5} M) ve reçine konsantrasyonu ($0,2905 \pm 0,0150$ g/L) sabit tutulmuş, 5 mg/L'den başlayarak 300 mg/L'ye kadar devam eden farklı EPS konsantrasyonu denenmiştir. İstenilen koşullarda hazırlanan

deney tüpleri 48 saat çalkalandıktan sonra çözelti kısmından alınan numune ile çözültide kalan ve reçineye tutunan Cr konsantrasyonları belirlenmiştir.

3.2.6. EPS-Cr(III) Kompleks Oluşumu Modellemesi

Günümüzde iyon değişim deney sonuçları kullanılarak metal-organik ligand kompleksleri reaksiyon stokiometrisi ve oluşum sabitleri başarı ile belirlenebilmektedir [5]. Deney sonuçlarından elde edilen bu veriler iki şekilde modellenmektedir. Bunların başında grafiksel yöntemler olan fiziksel modeller bulunmaktadır. Bu fiziksel modeller arasında en çok kullanılanlar, Schubert yöntemi [57], Scatchard metodu [58] ve Langmuir [59] yöntemidir. Günümüzde, daha gelişmiş ve kimyasal veri tabanı bulunduran bazı modeller geliştirilmiştir. Bu modeller, metal-ligand etkileşimlerini fiziksel parametrelerle değil, denge sabitleri gibi doğal koşullara yakın kimyasal parametreler ile ifade edilmesine olanak sağlamaktadır. Örneğin, Kantar ve ark. [60] bu yöntemi kullanarak U(VI)'un sitrik asit ile 1:1 U-sitrat kompleksi oluşturduğu ve bu kompleks için belirlenen oluşum denge sabitinin literatür değerleri ile birebir bir benzerlik gösterdiğini belirlemişlerdir. Yine aynı şekilde, Kantar ve Honeyman [5], Pu(IV)-sitrik asit sistemini çalışmış ve oluşan bileşiğin 1:1 Pu:sitrat reaksiyon stokiometrisine sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Yukarıda belirtildiği gibi kimyasal model geliştirilmesi bazı spesiasyon yazılımları içinde yapılmaktadır. Günümüzde bu amaçla kullanılan temel kodların başında FITEQL gelmektedir [61]. FITEQL'ün çok yaygın kullanılmasının en büyük nedeni oluşum sabitlerinin hesaplanmasında non-lineer optimizasyon yapılmasına olanak sağlamasıdır.

Bir kimyasal modelde Cr(III)'ün herhangi bir organik ligand ile yaptığı kompleks aşağıdaki gibi ifade edilebilir:



oluşum denge sabiti, $\beta_{1,i}$:

$$\beta_{1,i} = \frac{[\text{Cr}(\text{L})_i^{(3-i)}][\text{H}^+]^i}{[\text{Cr}^{3+}][\text{HL}]^i} \quad (3.2)$$

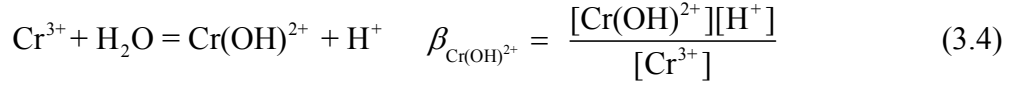
Burada HL protonlu organik ligandı, i ligand sayısını ve $\text{Cr}(\text{L})_i^{(3-i)}$ ise Cr-organik ligand kompleksini ifade etmektedir. İyon değişimi deney sonuçları optimize edilerek oluşan bileşiklerin oluşum sabitleri $\log \beta_{1,i}$ hesaplanabilmektedir [5, 60].

Kimyasal modellerin temeli kütle denkliği denklemleri ile kütle aksiyon denklemlerine dayanmaktadır. Kimyasal modellerde organik asitsiz bir çözeltilde çözülmüş Cr(III) bileşikleri üzerine kütle denkliği denklemi aşağıdaki gibi yazılabilir:

$$[\text{Cr(III)}]_T = \text{Cr}^{3+} + \text{Cr}(\text{OH})^{2+} + \dots = \text{Cr}^{3+} \{1 + \beta_{\text{Cr}(\text{OH})^{2+}} [\text{OH}^-] + \dots\} \quad (3.3)$$

Görüldüğü gibi Cr(III) ortamın pH'sına bağlı olarak suda hidrolize olmakta ve Cr-hidroksil kompleksleri oluşmaktadır. Özellikle deneylerin yapıldığı pH 3 ve

4'te çözültide ancak Cr^{3+} ve $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$ iyonları bulunmakta ve bu iki iyon arasındaki reaksiyon aşağıda belirtildiği gibidir [62-64]:



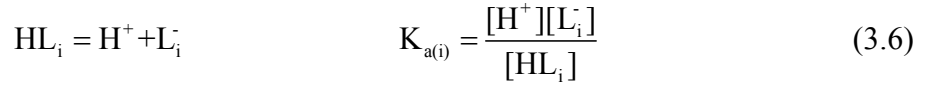
Organik asit varlığında, Cr-organik ligand komplekslerinin oluşumu göz önünde bulundurulduğunda, çözülmüş Cr(III) kütle denkleği denklemini aşağıdaki şekilde yazılır:

$$[\text{Cr}(\text{III})]_{\text{T}} = \text{Cr}^{3+} + \text{Cr}(\text{OH})^{2+} + \dots + \text{Cr}(\text{L})_i^{(3-i)} \quad (3.5)$$

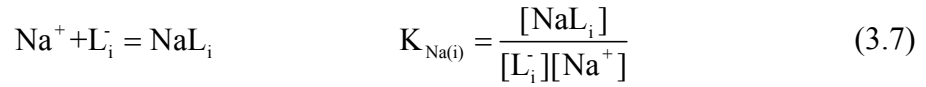
FITEQL ile içerisinde bulundurduğu ayrı ligand ve sürekli ligand modelleri ile modelleme yapılmaktadır [65-67]. Bu modeller içerisinde en çok kullanılan, ayrı ligand modelidir. Bunun en büyük nedeni sürekli ligand modeline göre daha basit oluşudur. Ayrı ligand modeli içerisinde heterojen doğal organik moleküller bir seri monoproitik organik asitten (HL_i) oluşan moleküller olarak, monoproitik asitlerin asit/baz özellikleri ise rastgele belirlenen iyonlaşma oluşum sabitleri (pK_a) ile tanımlanmaktadır [5, 65]. Model geliştirilmesi iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada, monoproitik asitlerin asit/baz özellikleri deneysel potansiyometrik titrasyon eğrileri oluşturularak bulunmuş, ikinci aşamada ise, iyon değişimi deneylerinden elde edilen veriler ayrı ligand modeli ile modellenerek reaksiyon stokiyometrilere ve metal- HL_i oluşum denge sabitleri (Log K) belirlenmiştir.

Laboratuvar analiz sonuçlarına göre de doğal organik moleküllerdeki fonksiyonel grupların pK_a değerlerinin logaritmik ölçekte eşitçe dağıtılmış oldukları

görülmektedir. Örneğin, EPS’de bulunan karboksilik grupların pK_a değerlerinin 4-5 civarında bulunduğu, pK_a 6’da hem karboksilik hemde fosfat gruplarının bulunduğu, pK_a 7-8 civarlarında fosfat gruplarının ve pK_a > 9 ise amino, hidroksil ve fenol gruplarının bulunduğu bilinmektedir [67]. Her bir monoprotik asit grubunun konsantrasyonu (T_{HL_i}) ile organik asitin elektrostatik davranışlarını tanımlayan (K_{Na(i)}) terimi potansiyometrik titrasyon eğrisinin ayrı ligand modeli içerisinde optimizasyonu ile mümkün olmaktadır [65]. Ayrı ligand modeli içerisinde organik moleküllerin asit/baz özellikleri aşağıda verilen reaksiyonlar ile ifade edilmiştir:



Elektrolit çözeltisinin (iyonik gücün) titrasyon eğrileri üzerine etkisi aşağıdaki reaksiyonlar ile tanımlanmıştır:



Burada K_{a(i)} monoprotik asit iyonlaşma denge sabitini, i fonksiyonel grup sayısını (ligand sayısı) ve K_{Na(i)} ise monoprotik asitin elektrostatik özelliklerini belirleyen denge sabitini göstermektedir. Bu tip modeller elektrostatik olmayan modeller olup, elde edilen oluşum sabitleri şartlı oluşum sabitleridir.

EPS’nin asit/baz özellikleri (proton bağlanması) belirlendikten sonra, modellemenin ikinci aşamasına geçilmiş ve iyon değişimi deney sonuçları kullanılarak Cr(III)-EPS reaksiyon stokiyometrileri ile bu reaksiyonların oluşum sabitleri belirlenmiştir. EPS-metal kompleksleşmesi, EPS’de bulunan karboksilik ve fosfat gruplarındaki protonlar ile metal iyonlarının yerdeğiştirmesi ile

gerçekleşmektedir [5, 19, 20, 68]. EPS-Cr(III) kompleks oluşum reaksiyonu, aşağıda verilen reaksiyon ile tanımlanmıştır.



Bu reaksiyona ait şartlı oluşum sabiti aşağıdaki denklemde verildiği şekliyle ifade edilmiştir:

$$\beta_{1,i} = \frac{[\text{Cr(L)}_i^{(3-i)}][\text{H}^+]^i}{[\text{Cr}^{3+}][\text{HL}]^i} \quad (3.9)$$

Burada HL protonlu fonksiyonel siteyi, $\text{Cr(L)}_i^{(3-i)}$ ise Cr(III)-EPS kompleksini göstermektedir. Bu reaksiyona ait oluşum denge sabitinin ($\beta_{1,i}$) hesaplanması FITEQL içerisinde oluşturulan ayrı ligand modelinin iyon değişimi deney sonuçlarına uydurulması ile mümkün olmuştur.

3.2.7. Kesikli Adsorpsiyon Deneyleri

Kesikli adsorpsiyon deneyleri, 50 ml'lik Oak Ridge santrifüj tüplerinde 3 g/L toprak konsantrasyonu, 50-100 ppm EPS konsantrasyonu ve 0,01 M iyonik şiddet olacak şekilde çözeltiler hazırlanmıştır. Deneyler pH 3 – 9 aralığında yapılmış ve deneylerde başlangıç krom konsantrasyonları 10^{-5} M olarak belirlenmiştir. İstenilen kimyasal koşullarda hazırlanan deney şişeleri oda sıcaklığında ($\sim 25^\circ\text{C}$) ve 175 rpm'de 3 gün boyunca çalkalanmıştır. Çözeltilerin son pH'ları not edilmiştir. Daha sonra örnekler, 10000 rpm'de 25 dakika boyunca santüfjlenmiştir. Katı-sıvı ayrımı sağlandıktan sonra, çözeltiden 5 mL alınarak pH'sı 2 olacak şekilde HNO_3 ile asitlendirilmiş ve ICP-MS'de krom analizi yapılmıştır. Aynı şekilde farklı pH

aralıklarında krom içermeyen 50 ppm EPS içeren çözeltilerde hazırlanmış ve EPS'nin toprağa adsorpsiyonu araştırılmıştır. Çözeltide kalan P miktarı ICP-MS'de analiz edilmiş ve elde edilen sonuçlardan EPS adsorpsiyonu saptanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. TOPRAK ÖRNEĞİNİN BAZI FİZİKSEL VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Araştırmada kullanılan toprağın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri 105 Y 272 no'lu TÜBİTAK projesi kapsamında saptanmıştır. Bu veriler Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2'de verilmiştir [36].

Çizelge 4.1. Toprak örneğine ait bazı parametreler [36]

Özellik	Değer
Nem (%)	11,38
Suya doygunluk (%)	68
Tuz (%)	0,031
Toprak reaksiyonu (pH)	7,57
Kireç (CaCO ₃) (%)	5,02
Organik madde (%)	3,17
Alınabilir P (kg P ₂ O ₅ /da)	1,03
Alınabilir K (kg K ₂ O/da)	40
Katyon değişirme kapasitesi (KDK) (me/100 g)	49,48
Spesifik yüzey alanı (m ² /g)	229
Kum (0.06-2 mm) (%)	62,91
Silt (0.002-0.06 mm) (%)	20,54
Kil (<0.002 mm) (%)	16,55
Tekstür Sınıfı	SL
Geçirgenlik (cm/h)	14,78

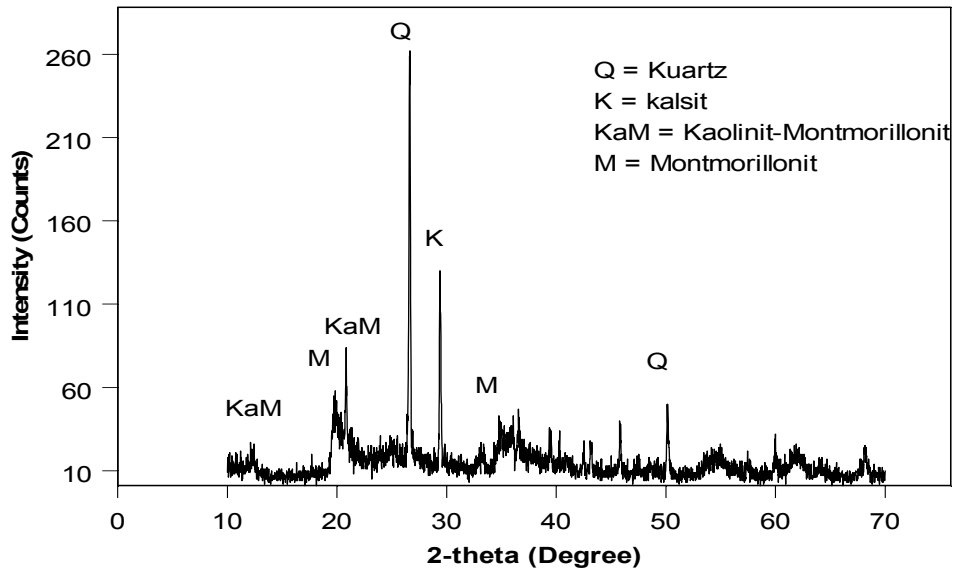
Çizelge 4.1’de görülüyor ki, toprak örneğinin suya doygunluk oranı %68’dir. Bu da ortalamanın (%20-30) üstünde bir değerdir. Toprak reaksiyonu yaklaşık 7,5 olup hafif alkalın karakterdedir. Toplam tuz oranı ortalama %0,03 civarında olup tuzsuz olarak nitelendirilebilir. Kireç oranı %5,02’dir ve orta kireçli olarak sınıflandırılabilir. Organik madde içeriği %3,17 olarak yüksek sayılabilecek bir yüzdeye sahiptir. Araştırmada bulunan fosfor (1,03 kg P₂O₅/da) az miktarda, potasyum ise (40 kg K₂O/da) bol miktarda bulunmaktadır. Toprağın bünye sınıfı ise, kumlu tın (SL) olup hızlı geçirgenliğe sahiptir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.2. Toprak örneğine ait bazı kimyasal parametreler [36]

Özellik	Değer
SiO ₂ (%)	35,24
Al ₂ O ₃ (%)	20,36
Fe ₂ O ₃ (%)	14,12
TiO ₂ (%)	1,15
CaO (%)	3,60
MgO (%)	1,12
Na ₂ O (%)	0,21
K ₂ O (%)	1,30

Toprakta X-Ray Floresans cihazı ile belirlenen kimyasal bileşenler Çizelge 4.2’de verilmiştir. Elde edilen bulgulara göre toprakların SiO₂; Al₂O₃; Fe₂O₃; TiO₂; CaO; MgO; Na₂O ve K₂O içerikleri % olarak sırayla 35,24; 20,36; 14,12; 1,15; 3,60; 1,12; 0,21 ve 1,31 olarak belirlenmiştir. XRF analizleri ile uyumlu olarak XRD analizleride, topraktaki temel minerallerin SiO₂, CaCO₃ ve kaolinit/montmorillonit gibi bazı kil minerallerinin olduğu görülmektedir (Şekil 4.1). XRD

çözümlemelerinde Fe elementini bünyesinde barındıran kristalin fazların gözlenmesi XRF analizleri ile belirlenen yüksek Fe_2O_3 içeriği ile uyumsuzluk oluşturmaktadır. Ancak toprağın bileşiminde amorf demiroksit fazlarının XRD piklerinde gözlenmemesi nedeniyle fazla gözlenen Fe_2O_3 içeriğinin amorf fazlardan kaynaklandığı söylenebilir. Toprakların Al_2O_3 içeriğinin yüksek oluşu, bu elementin kil mineralleri yapısında bolca bulunmasından kaynaklanmıştır. Toprakların Al- ve Fe- oksit içeriklerinin yüksek oluşu bu tip toprakların metaller için iyi birer adsorbent olduklarını göstermektedir [69]. Ayrıca, toprakların KDK değerinin yüksek oluşuda ulaşılan bu sonucu desteklemektedir. USEPA standart yöntemine göre toprakların toplam Cr ve Cr(VI) konsantrasyonlarının belirlenebilen değerlerin altında olduğundan 0 olarak kabul edilmiştir [50].



Şekil 4.1. Toprak XRD spektrumu [36]

4.2. EPS KARAKTERİZASYONU DENEY SONUÇLARI

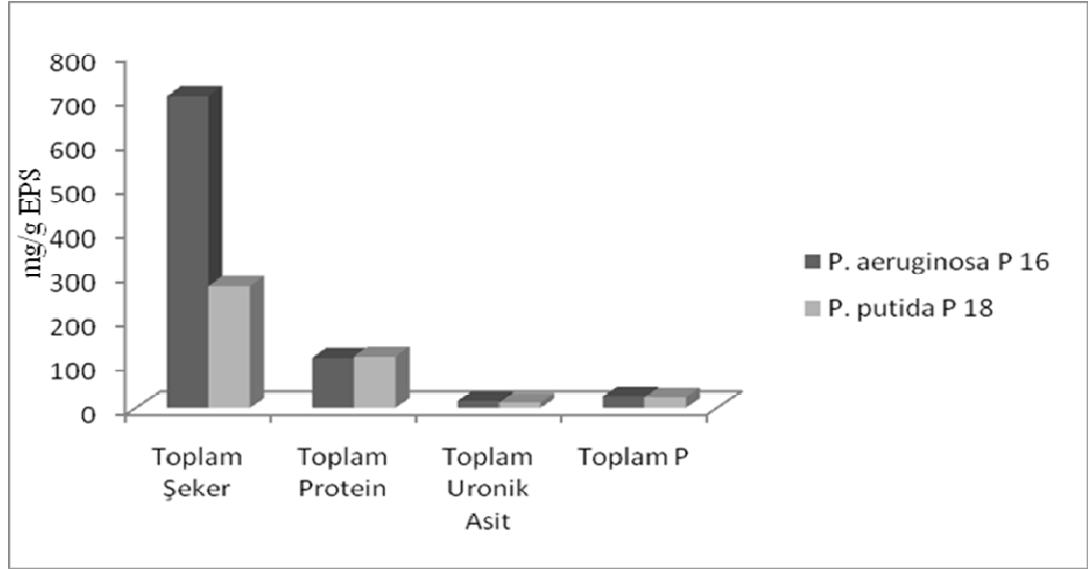
Çizelge 4.3'te görüldüğü üzere, farklı EPS türleri farklı miktarlarda madde içermektedir. *P. aeruginosa* P16 kültüründen izole edilen EPS'nin büyük bir çoğunluğunu şeker oluşturmaktadır. Protein ve şeker bütün EPS'lerin temel bileşenleri iken P ve uronik asit içerikleri nispeten düşüktür. Analizleri yapılan bu EPS içerikleri Guibaud ve ark. tarafından bir aktif çamur sisteminden izole edilen bakterilere ait EPS'lerin genel özellikleri ile benzerlik göstermektedir [19]. Ancak elde edilen bu veriler, uronik asit konsantrasyonu hariç Hung ve ark. [16] tarafından *P. Fluorescens* Biovar II kültüründen saflaştırılan EPS ile benzerlik göstermektedir.

Çizelge 4.3. *P. aeruginosa* P16 ve *P. putida* P18 kültürlerinden izole edilen EPS'lerin bazı özellikleri

PARAMETRE	<i>P. aeruginosa</i> P16	<i>P. putida</i> P18
Toplam Şeker (mg/g EPS)	706	276
Toplam Protein (mg/g EPS)	113	115,7
Toplam Uronik Asit (mg/g EPS)	15,64	12,24
Toplam P (mg/g EPS)	25,70	24

EPS karakterizasyonu, EPS'nin metal kompleksleşmesini sağlayıcı fonksiyonel grupları içermesi nedeniyle önemlidir. Karboksilik gruplar EPS'de mevcut protein, uronik asit ve amino şekerlerden gelirken, fosforik gruplar ise nükleik asitler varlığından gelmektedir. Fenol ve amin grupları ise EPS'de bulunan protein ve amino şekerlerde bulunmaktadır. Hidroksilik grupların kaynağı ise EPS'deki polisakaritlerdir [67, 70].

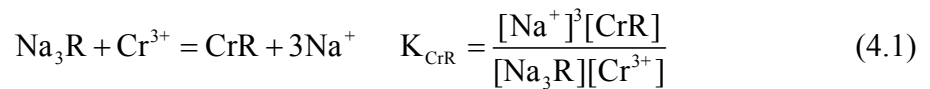
EPS türlerinin içerikleri Şekil 4.2’de karşılaştırılmıştır. Her iki EPS türünde de toplam protein, uronik asit ve P miktarları birbirine yakın değerlerdedir. Toplam şeker içeriğine bakıldığında ise *P. aeruginosa* P 16 bakterisinden izole edilen EPS’de çok daha fazla miktarda bulunduğu açık bir şekilde görülmektedir.



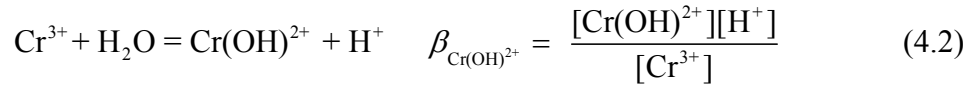
Şekil 4.2. EPS türlerinin toplam şeker, protein, uronik asit ve toplam fosfor içeriklerinin dağılımları

4.3. REÇİNE-Cr(III) İZOTERM DENEY SONUÇLARININ MODELLENMESİ

1.nci aşama deney sonuçlarından elde edilen izoterm eğrileri Şekil 4.3’te verilmiştir. Bu izoterm eğrileri bir kimyasal model içerisinde modellenmiş ve Cr-reçine yüzey kompleksi oluşum denge sabiti belirlenmiştir. Bu kimyasal model içerisinde Cr(III)’un reçine yüzeyine tutunması aşağıda verilen iyon değişimi reaksiyonu ile ifade edilmiştir:



Bu reaksiyonda R negatif yüklü reçine yüzeyini ve CrR ise yüzeyde oluşan Cr kompleksini ifade etmektedir. Her bir Cr iyonu ile 3 adet Na iyonu yer değiştirmiştir. Simülasyonlarda reçine konsantrasyonu (mol/L) bağımsız değişken ve reçine yüzeyine tutunan Cr(III) konsantrasyonu (mol/L) ise bağımlı değişken olarak tutulmuştur. Simülasyonlarda kullanılan su fazı Cr(III) bileşikleri Çizelge 4.4’de verilmiştir. Modellerde su fazı bileşikleri için aktivite katsayıların hesaplanması Davies denkleminde göre yapılmıştır. Yukarıda belirtildiği gibi izoterm deneylerinin yapıldığı pH değerlerinde su fazında gerçekleşen temel reaksiyon, reaksiyon 4.2 olup, Rai ve ark. [62] tarafından yapılan bir çalışmaya göre bu reaksiyonun oluşum sabitinin ($\log \beta_{\text{Cr(OH)}^{2+}}$) -3.57’den büyük bir değer olduğu saptanmıştır.

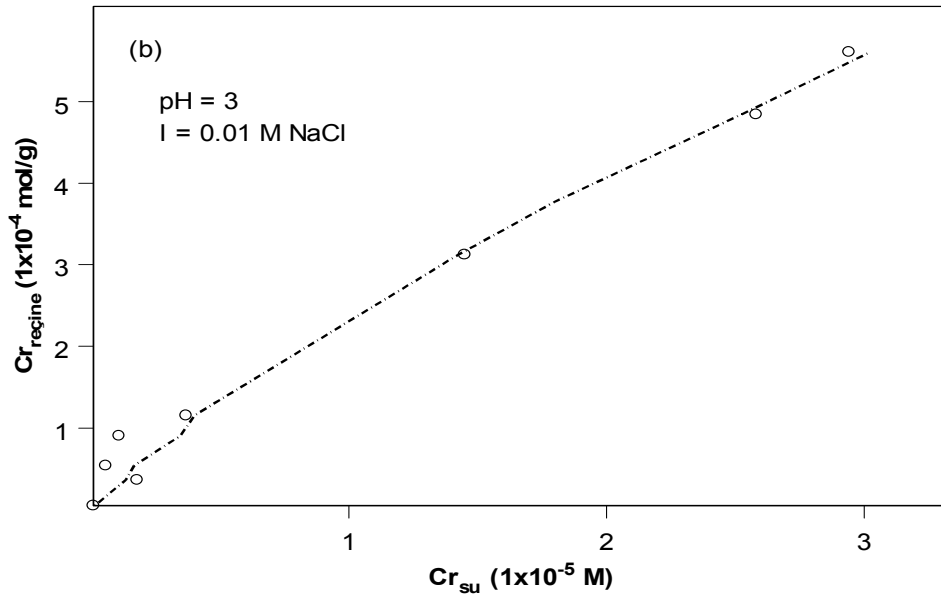
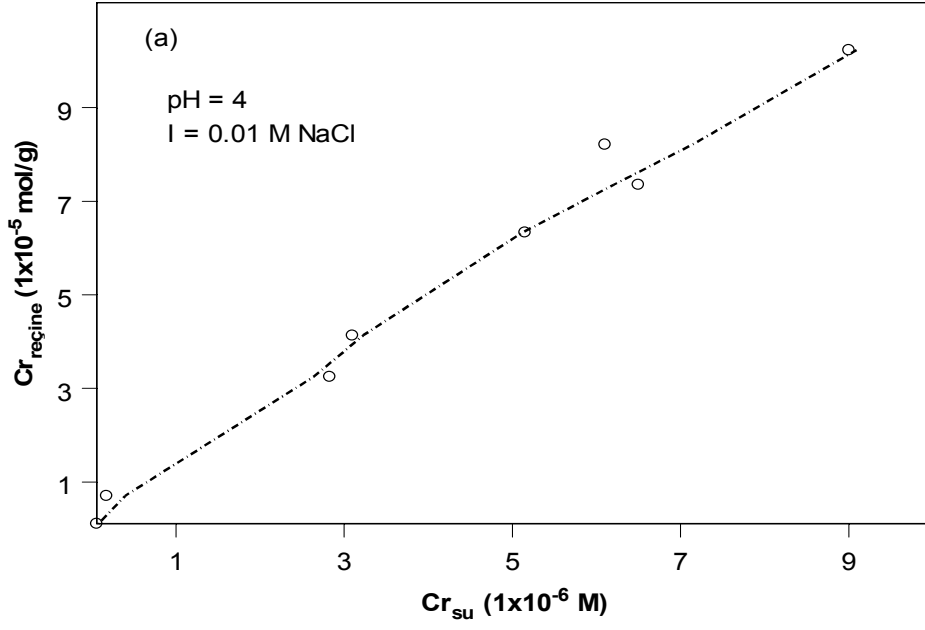


Çizelge 4.4. Su fazı Cr(III) hidroliz reaksiyonları ve bu reaksiyonlara ait oluşum denge sabitleri [62]

Reaksiyon	log K (I = 0)	Kaynak
$\text{Cr}^{3+} + \text{H}_2\text{O} = \text{Cr(OH)}^{2+} + \text{H}^+$	-3,486 ± 0,076	Bu araştırma
$\text{Cr}^{3+} + 2\text{H}_2\text{O} = \text{Cr(OH)}_2^+ + 2\text{H}^+$	>-9,87	Rai ve ark.
$\text{Cr}^{3+} + 3\text{H}_2\text{O} = \text{Cr(OH)}_3 + 3\text{H}^+$	>-16,19	Rai ve ark.
$\text{Cr}^{3+} + 4\text{H}_2\text{O} = \text{Cr(OH)}_4^- + 4\text{H}^+$	>-27,65	Rai ve ark.

Han ve ark. [64] tarafından ise bu reaksiyon için oluşum sabitinin -3.82 olduğu bildirilmiştir. İzoterm deneylerinin pH 3 ve 4’te yapılmasının en büyük nedeni Cr-reçine yüzey kompleksi oluşum sabiti ile birlikte Reaksiyon 4.2’nin oluşum denge sabitinin belirlenmesi ve literatürde görülen bu belirlisizliğin doldurulmasıdır.

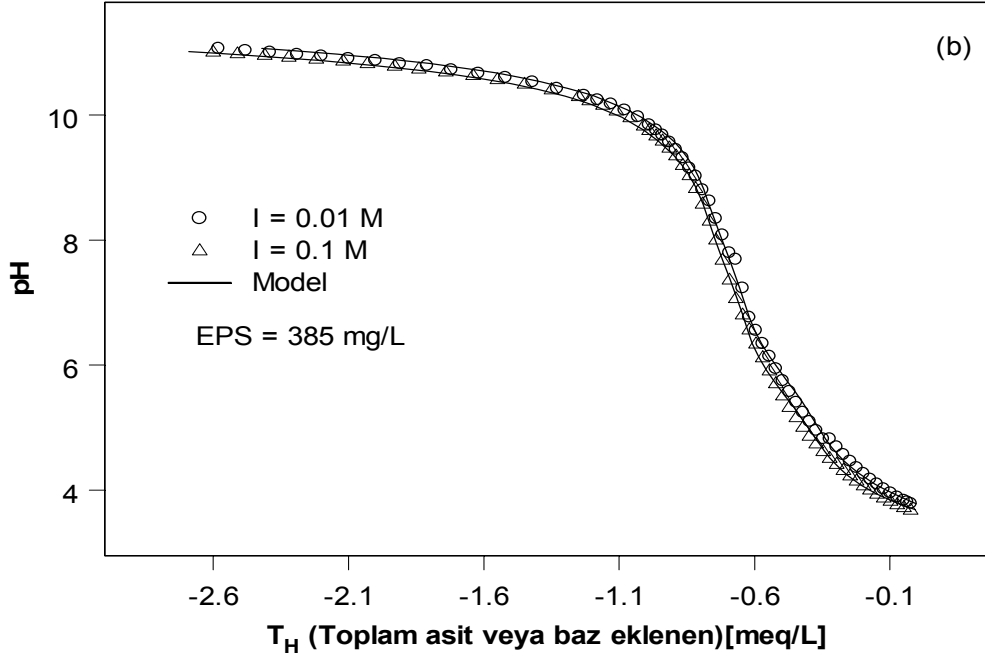
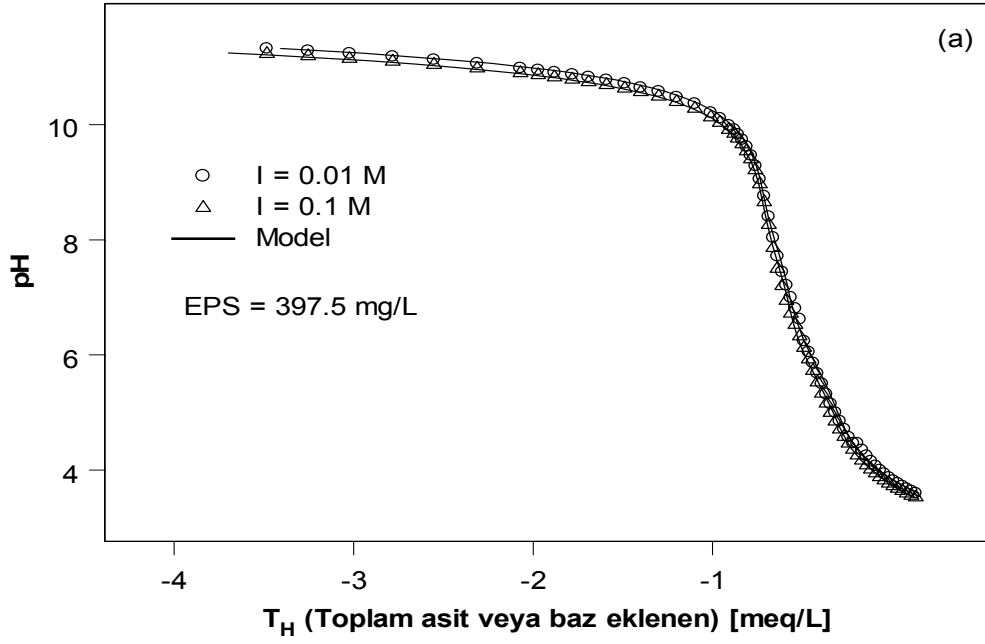
Şekil 4.3'te deney sonuçları ile birlikte yapılan simülasyonun sonuçları verilmiştir. Simülasyonlar sonucunda, Reaksiyon 4.2 ve Cr-reçine yüzey kompleksi oluşum sabiti, sırası ile $\log \beta_{\text{Cr(OH)}^{2+}} = -3,486 \pm 0,076$ ve $\log K_{\text{CrR}} = -1,888 \pm 0,027$ olarak bulunmuştur. FITEQL içerisinde geliştirilen modelin deneysel veriyi ifade etme başarısı WSOS/DF(weighted sum of squares/degrees of freedom) değeri ile belirlenmekte ve Dzombak ve Morel [71]'e göre bir modelin istatistiksel olarak geçerli sayılması için bu değer 20'den az olması gerekmektedir. Yapılan simülasyonlar sonucunda WSOS/DF değeri 1,071 olup, Reaksiyon 4.2 ve Cr-reçine yüzey kompleksi oluşum denge sabitlerinin bulunması için yapılan optimizasyonun istatistiksel olarak geçerli olduğu görülmüştür. FITEQL, kimyasal model tarafından öngörülen kütle denklemleri ve kütle aksiyon denklemlerine bağlı olarak deneysel veri ve model sonuçları arasındaki farkı azaltarak kompleksleşme reaksiyonunun oluşum denge sabitini tahmin etmektedir. Görüldüğü üzere Reaksiyon 4.4 için elde edilen değer -3,486 olup, Rai ve ark. [62] tarafından belirtildiği gibi -3,57'den büyüktür.



Şekil 4.3. İyon Değişimi İzotermi, (a) pH=4, (b) pH=3

4.4. EPS POTANSİYOMETRİK TİTRASYON EĞRİLERİNİN SİMULASYONU

Bakteriyal EPS yapısında karboksilik, fosforik, amin, fenolik ve hidroksilik grupları içeren heterojen bir organik moleküldür. EPS'lerin asit/baz özellikleri (proton bağlanması) Westall ve ark. [65] tarafından geliştirilen ayrı ligand modeli ile karakterize edilmiştir. Şekil 4.4'te *P. aeruginosa* P16 ve *P. putida* P18 bakterilerinden elde edilen EPS'lere ait potansiyometrik titrasyon eğrileri bulunmaktadır. Deneyler 0,01 ve 0,1 M NaCl olmak üzere iki ayrı iyonik güçte yapılmıştır. Şekil 4.4'te görüldüğü üzere çalışılan pH aralıklarında EPS'lerin yüzey yüklerinin negatif oldukları görülmektedir. Bunun nedeni yapılarında bulundurdukları ve yukarıda adı geçen fonksiyonel grupların birçoğunun bu pH aralıklarında protonlarını kaybetmiş olmalarıdır.



Şekil 4.4. EPS'lerin 0,01 ve 0,1 M NaCl Çözeltisinde Titrasyonu, (a) *P. aeruginosa* P16, (b) *P. putida* P18

Bu grafikler, eklenen toplam asit veya baz konsantrasyonu-pH değerlerine göre çizilmiştir. Kalın çizgiler ayrı ligand modeli simülasyonlarını göstermektedir. Simülasyonda kullanılan parametreler ve değerleri Çizelge 4.5.'te sunulmuştur.

Çizelge 4.5. EPS Asit/Baz Reaksiyonları

Reaksiyon	THL _i (mmol/g) ^a	log K (I = 0)
<i>P. putida</i> P18 ^b		
HL ₁	0,959 ± 0,016	-4
HL ₂	0,715 ± 0,009	-6
HL ₃	0,356 ± 0,013	-8
HL ₄	0,626 ± 0,016	-10
Li ⁻ + Na ⁺ = NaL _i		1,006
<i>P. aeruginosa</i> P16 ^c		
HL ₁	0,773 ± 0,011	-4
HL ₂	0,673 ± 0,008	-6
HL ₃	0,380 ± 0,012	-8
HL ₄	0,254 ± 0,017	-10
Li ⁻ + Na ⁺ = NaL _i		0,727

a: Şekil 4.4'teki titrasyon eğrilerinin FITEQL içerisinde geliştirilen ayrı ligand modeli ile optimize edilmesi ile bulunmuştur.

b: Toplam HL(i) = 2,656 ± 0,014 mmol/g; T_H^o = -23,17 µM

c: Toplam HL(i) = 2,080 ± 0,012 mmol/g; T_H^o = 131

Simülasyonlarda ana denklem olarak proton denge denklemi kullanılmıştır:

$$T_H^{\text{calc}} = [\text{H}^+] - [\text{OH}^-] - \sum [\text{L}_i^-] - \sum [\text{NaL}_i] \quad (4.3)$$

Herhangi bir “i” ligandı için kütle denkliği denklemi ise aşağıda verildiği gibidir:

$$T_{\text{HL}(i)} = [\text{HL}_i] + [\text{L}_i^-] + [\text{NaL}_i] \quad (4.4)$$

T_H 'nın deneysel değeri (T_H^{exp}) aşağıda verilen denklemle hesaplanmıştır:

$$T_H^{\text{exp}} = C_a - C_b + T_H^{\circ} = \Delta T_H + \Delta T_H^{\circ} \quad (4.5)$$

Burada C_a ve C_b titrasyon süresince sisteme eklenen toplam kuvvetli asit veya baz konsantrasyonunu gösterirken T_H° ise başlangıçta EPS'de bulunan kuvvetli asit veya baz konsantrasyonunu ifade etmektedir.

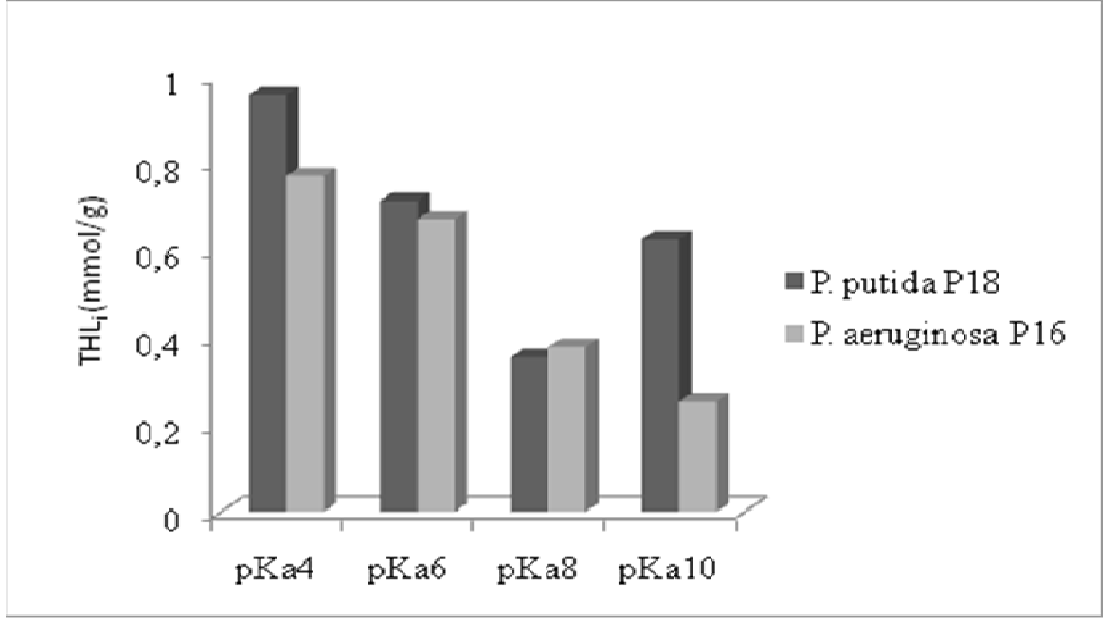
Ayarlanabilir parametrelerin değerleri ($T_{\text{H}(i)}$) FITEQL içerisinde geliştirilen ayrı ligand modelinde fark fonksiyonunun (Y) minimize edilmesi ile hesaplanmıştır:

$$Y = T_H^{\text{calc}} - T_H^{\text{exp}} \quad (4.6)$$

Burada T_H^{calc} hesaplanan değeri ve T_H^{exp} ise deneysel veri olarak gösterilmiştir.

Ayrı ligand modeli ile EPS gibi doğal bir polisakaritin simulasyonunda karşılaşılan en kiritik ve zor kısım ise başlangıçtaki kuvvetli asit veya baz konsantrasyonun (T_H^0) belirlenmesidir. Westall ve ark. [65] bu sorunu detaylı bir şekilde irdelemiş ve bu karmaşanın çözümü için bir takım seçenekler ortaya koymuştur. Westall ve ark. [65]'in önerildiği şekilde, modelde T_H^0 'yı bir ayarlanabilir parametre olarak kullanılmıştır. Ayrıca, modelde çözelti iyonik gücünün Cr(III)'ün EPS'ye bağlanmasına etkisi tek bir $K_{Na(i)}$ değeri ile ifade edilebileceğinden, o şekilde uygulanmıştır.

Modelde her bir monoproitik asit grubu konsantrasyonu ($T_{H(i)}$) ve elektrostatik enerji terimi değerinin hesaplanması ($K_{Na(i)}$), Şekil 4.4'te verilen titrasyon eğrilerinin ayrı ligand modelinde simüle edilmesi ile mümkün kılınmıştır. Burada amaç, doğal pH aralıklarında minimum sayıda monoproitik asit grubu kullanarak EPS'nin asit/baz özellikleri belirlemektir. Simülasyon sonuçları Çizelge 4.5'te verilmiştir. Görüldüğü gibi çalışmada kullanılan bütün EPS'lerin asit/baz özelliklerinin doğru bir şekilde ifade edilmesi için HL_1 , HL_2 , HL_3 ve HL_4 olmak üzere minimum 4 ayrı monoproitik asit grubu kullanılmış ve bu monoproitik asit gruplarının pK_a değerleri sırasıyla 4, 6, 8 ve 10 olarak tutulmuştur. Operasyonel anlamda pK_a 4 asit grupları EPS'deki karboksilik (-COOH) fonksiyonel grupları, pK_a 6 karboksilik/fosforik asit gruplarını, pK_a 8 fosforik asit gruplarını ve pK_a 10 ise hidroksil/fenolik fonksiyonel grupları temsil etmektedir. Belirlenen bu fonksiyonel gruplar bakteri yüzeyleri ve bakteriyel EPS için belirlenen fonksiyonel gruplar ile birebir benzerlik göstermektedir [20, 67, 68, 72]. Çalışmada kullanılan EPS'lerin pK_a değerlerine göre konsantrasyon dağılımları Şekil 4.5'te verilmiştir. Bütün EPS'lerin karboksilik grup konsantrasyonlarının fazla oluşu bu fonksiyonel gruplarının metal bağlanmasında büyük rol oynayacağını göstermektedir. Yukarıda belirtildiği gibi pK_a 8 fonksiyonel grupları EPS'deki fosforik asit fonksiyonel gruplarını temsil etmektedir.



Şekil 4.5. EPS fonksiyonel gruplarının pK_a değerlerine göre dağılımı

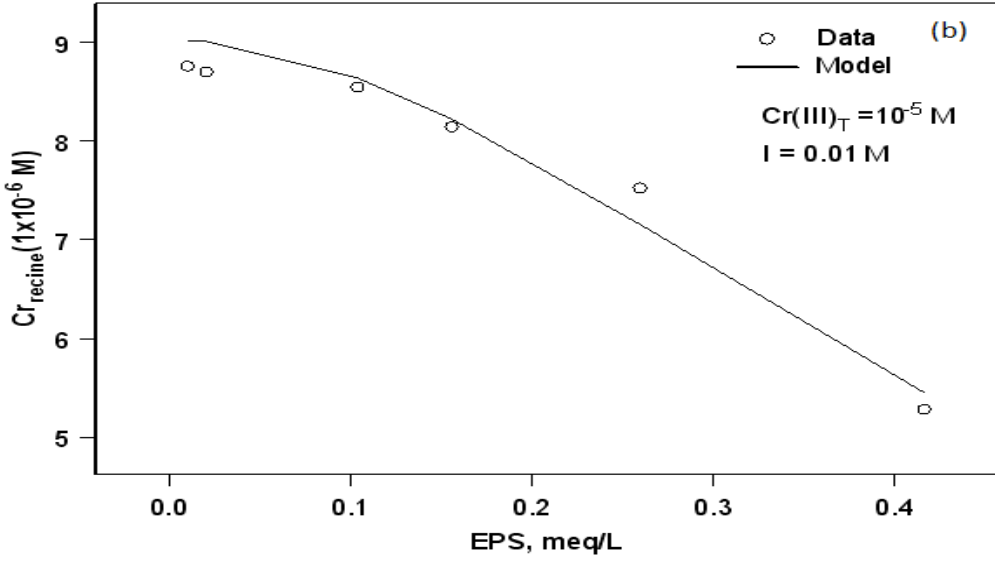
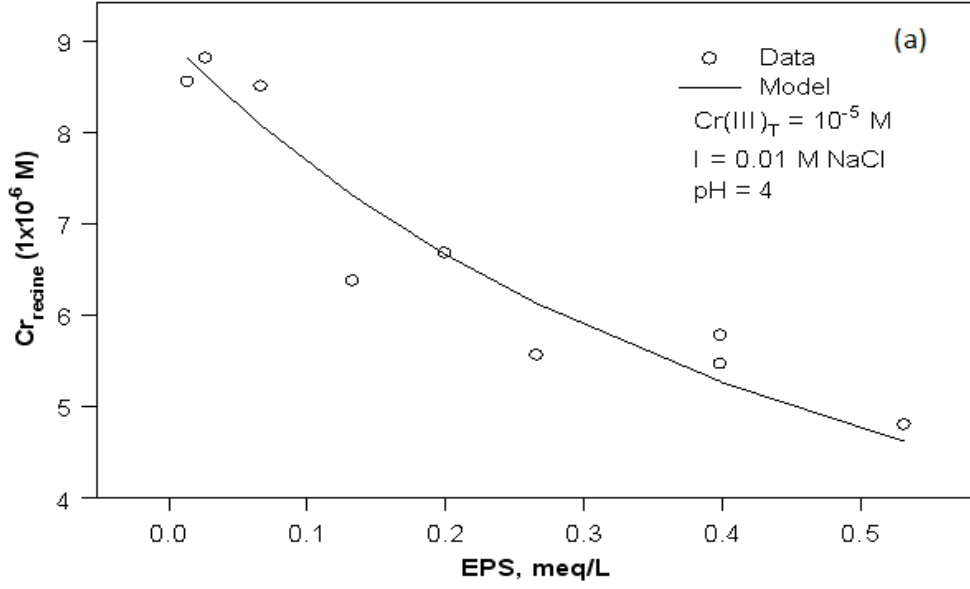
Modelce tahmin edilen bu değerler ICP-MS ile belirlenen EPS'lere ait P içeriği ile birebir örtüşmektedir. Hung ve ark. [16]'e göre *P. fluorescens* Biovar II suşundan ekstrakte edilen EPS'de temel fonksiyonel gruplar karboksilik fonksiyonel gruplar olarak ortaya çıkmaktadır. Guibaud ve ark. [19]'e göre de hem karboksilik hem de fosforik asit gruplarının metal-EPS etkileşiminde rol aldığını göstermektedir.

Çizelge 4.5'te verilen sabit pK_a değerleri kullanılarak, her bir EPS'ye ait titrasyon eğrisinin modellenmesi için toplam 6 adet ayarlanabilir parametreye ihtiyaç duyulmuştur (4 adet T_{HL(i)}, 1 adet K_{Na(i)} ve 1 adet T_H⁰). Fonksiyonel grup toplam konsantrasyonu ve model ayarlanabilir parametre sayısı karşılaştırıldığında EPS'lerin humik asit gibi doğal organik maddelere oranla daha uniform ve basit bir yapıya sahip olduğu anlaşılmaktadır [16]. Örneğin, Lenhart ve Honeyman [74] ayrı ligand modeli ile humik asit asit/baz özelliklerini modellemiş ve modelde en az 7 tane ayarlanabilir parametreye ihtiyaç duyulduğunu göstermiştir. EPS'lerin fonksiyonel grup toplam konsantrasyonları (T_{H(i)}) sırasıyla P18 için 2,656 ve P16 için 2,08

mmol/g'dır (Çizelge 4.5). Belirlenen bu değerler literatürde diğer EPS'ler için belirlenen değerler ile birebir örtüşmekte iken humik maddeler için belirlenen değerlerin çok altındadır [19, 68]. Lamelas ve ark. [68] NICA Donan modelini kullanmış ve EPS'nin humik maddelere göre daha az fonksiyonel gruba sahip olduğunu göstermiştir. Örneğin, fulvik asitte belirlenen fonksiyonel grup toplam konsantrasyonu 7,74 mmol/g iken bu değer humik asit için 5,7 mmol/g'dır [68].

4.5. EPS-Cr(III) KOMPLEKS OLUŞUMUNUN AYRI LİGAND MODELİ İLE MODELLENMESİ

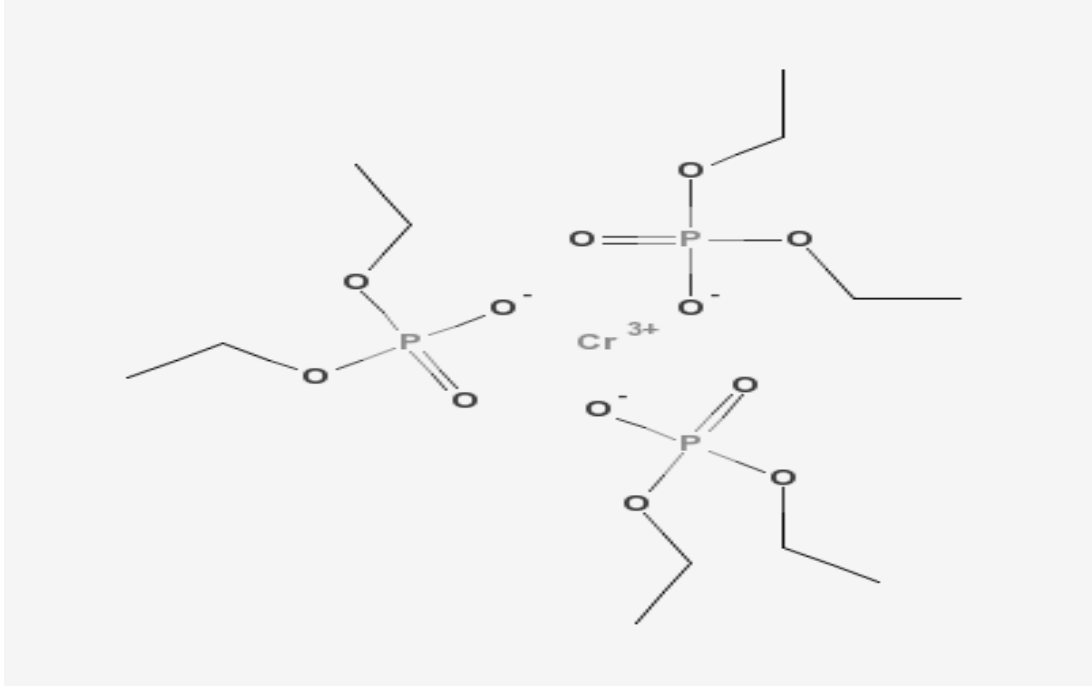
EPS'lerin asit/baz özellikleri belirlendikten sonra, modellemede ikinci aşamaya geçilmiş ve iyon değişimi deney sonuçları kullanılarak Cr-EPS reaksiyonları ve bu reaksiyonlara ait oluşum denge sabitleri belirlenmiştir. Ayrıca, bu analizler sonucunda EPS'deki hangi fonksiyonel grupların Cr ile etkileştiği Şekil 4.6' da EPS konsantrasyonuna (meq/L) bağlı olarak reçine yüzeyine tutunan Cr konsantrasyonu (mol/L) eğrisi verilmektedir. Görüldüğü üzere artan EPS konsantrasyonuna bağlı olarak reçine yüzeyine tutunan Cr(III) miktarı azalmaktadır. Bu, su fazında Cr-EPS kompleksinin oluştuğu ve bu kompleksin reçine sitelerine tutunmadığını göstermektedir. İyon değişimi deneylerinde kullanılan toplam Cr(III) konsantrasyonu 10^{-5} M iken için reçine konsantrasyonu ise $1,452 \times 10^{-3}$ M (0,2905 g /L)'dir.



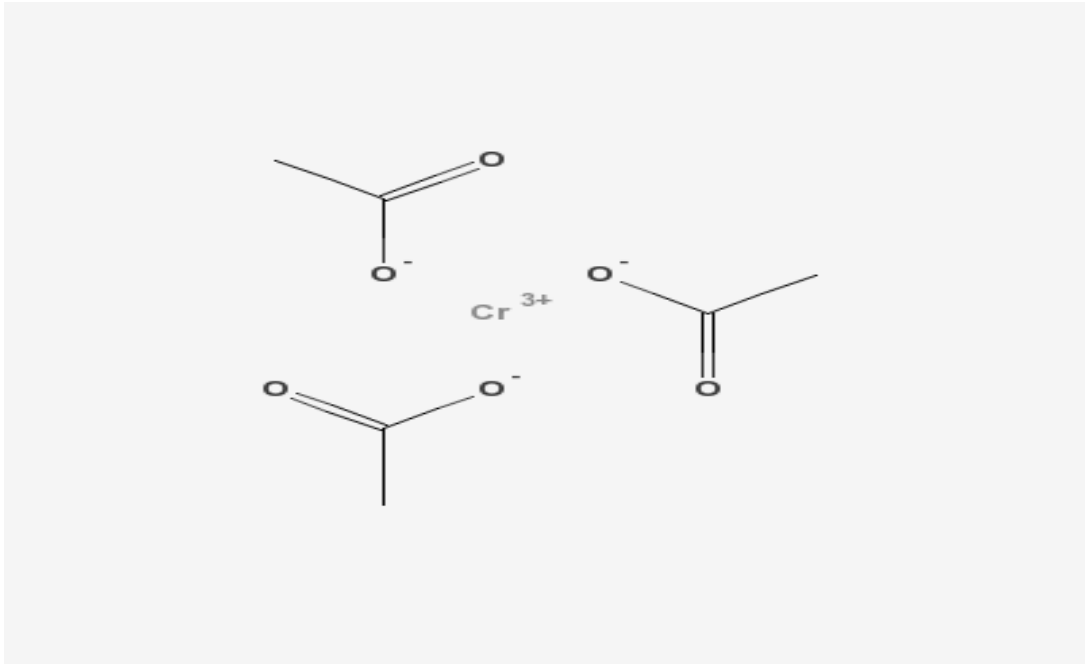
Şekil 4.6. EPS/Cr iyon değişimi deney sonuçları ($Cr(III)_T = 10^{-5} M$; $I = 0.01 M NaCl$), (a) *P. putida* P18, (b) *P. aeruginosa* P16

Not: Kalın çizgi elektrostatik olmayan ayrı ligand modeli optimizasyon sonuçlarını göstermektedir.

Şekil 4.6'da deney sonuçları ile birlikte yapılan simülasyonun sonuçları verilmiştir. Simülasyonlarda, su fazı krom reaksiyonlarına (Çizelge 4.4) ilaveten titrasyon deneyleri kullanılarak belirlenen EPS proton reaksiyonları (Çizelge 4.5) ve Cr(III)-reçine iyon değişimi reaksiyonu (Reaksiyon 4.1) kullanılmaktadır. Hangi monoprotik asit grubunun Cr ile etkileşime girdiğinin belirlenmesi için model ligandları (HL₁, HL₂, HL₃ and HL₄) ile Cr(III)'ün yapabileceği bütün reaksiyonlar sistematik bir şekilde model içerisinde tek tek denenmiş ve modellerin WSOS/DF değerleri not edilmiştir. Burada yapılmaya çalışılan deneysel veriyi tanımlayan en uygun modeli oluşturmaktır. Sistematik yapılan bu değerlendirmeler sonucu, P18 EPS'si için Cr(III)'ün iyonlaşma sabiti pK_a 6 olan monoprotik asit grubu (HL₂) ile 1:1 Cr:L₂ kompleksi oluşturduğu belirlendi. P16 EPS'si ise P18 EPS'sinde olduğu gibi Cr(III)'ün HL₂ fonksiyonel grubu ile bağ kurduğu ve reaksiyon sonucunda 1:2 Cr-L₂ kompleksinin oluştuğu görülmüştür. İlgili reaksiyonlar ve bu reaksiyonlara ait oluşum denge sabitleri Çizelge 4.6'da verilmiştir. Bu sonuçlardan anlaşılacağı üzere çalışılan bütün EPS'lerde mevcut karboksilik ve fosforik grupların Cr ile kompleks oluşturmada çok büyük rol aldığını göstermektedir. Guibaud ve ark. [19] ve Lamelas ve ark. [68] metal-EPS interaksiyonlarında benzer fonksiyonel grupların rol aldığını göstermektedir. Şekil 4.7 ve 4.8'de muhtemel Cr(III)-fosforik asit ve Cr(III)-COOH grupları muhtemel kompleks yapıları verilmiştir.



Şekil 4.7. Cr(III)-fosfat muhtemel kompleks yapısı [73]



Şekil 4.8. Cr(III)- karboksil grubu muhtemel kompleks yapısı [73]

Çizelge 4.6. EPS/Cr kompleks oluşum reaksiyonları ve belirlenen oluşum denge sabitleri

Ligand	Reaksiyon	Log K (I=0) ^a	WSOS/DF
<i>P. aeruginosa</i> P16	$\text{Cr}^{3+} + 2\text{HL}_2 = \text{Pu}(\text{L}_2)_2^+ + 2\text{H}^+$	1.199 ± 0.058^b	0.524
<i>P. putida</i> P18	$\text{Cr}^{3+} + \text{HL}_2 = \text{Pu}(\text{L}_2)^{2+} + \text{H}^+$	1.225 ± 0.029^b	2.054

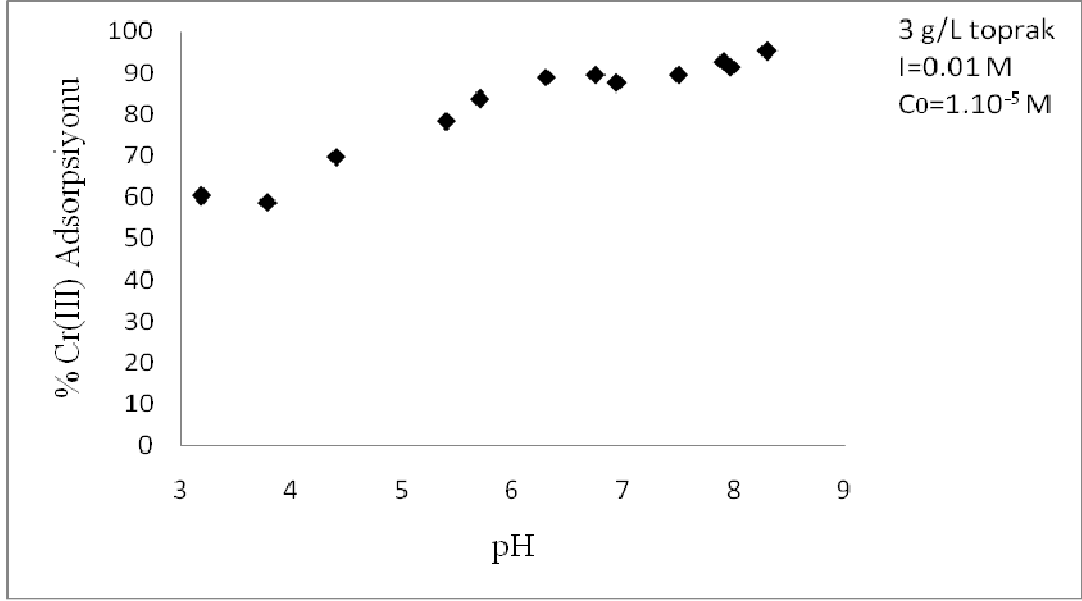
^a Şekil 4.6'da verilen iyon değişimi deney sonuçlarının ayrı ligand modeli simülasyonu ile bulunmuştur

^b Oluşum sabitleri için belirlenen hata payları Cr analizleri ($\pm 3\%$) ve pH ölçümlerindeki ($\pm 0,01$ pH birimi) belirsizliklerin model içerisinde yansıtılması ile belirlenmiştir.

4.6. KESİKLİ ADSORPSİYON DENEYİ SONUÇLARI

4.6.1. Cr(III)'ün pH'a Bağlı Olarak Toprağa Adsorpsiyonu

10^{-5} M başlangıç metal, 3 g/L toprak konsantrasyonunda, I=0,01 M koşulunda pH'a bağlı olarak Cr(III)'ün toprağa adsorpsiyonu şekil 4.9'da gösterilmiştir.



Şekil 4.9. Cr(III)'ün pH'a bağlı olarak toprağa adsorpsiyonu

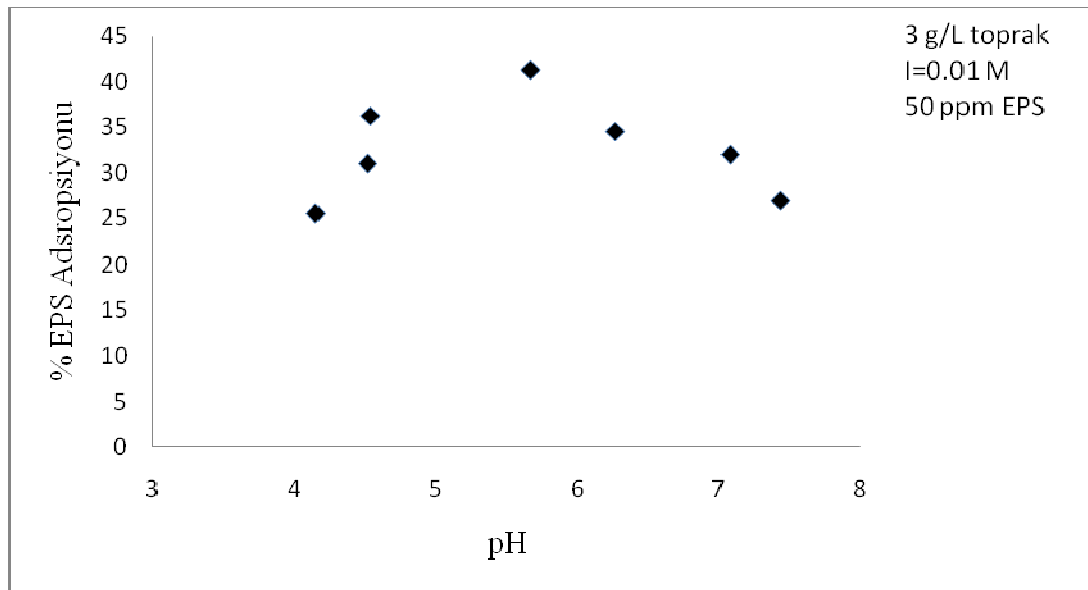
Grafikte görüldüğü üzere pH arttıkça, Cr(III) adsorpsiyonu artmaktadır. Bunun nedeni sulu çözeltilerde katyon durumunda olan Cr(III)'ün, pH yükseldikçe negatifliğe kayan toprak yüzeyine olan ilgisinin artmasıdır.

Toprak örneğinde %35,24 gibi yüksek bir oranda bulunan SiO_2 'in PZC değeri 2'dir (Çizelge 3.1-3.2). Ayrıca toprağın XRD analiz sonuçlarında, toprak örneğinin bol miktarda kaolinit ve montmorilinit içerdiği saptanmıştır. Özellikle kil mineralleri yüzeylerinden pH artışına bağlı olarak kaybettikleri protonlar nedeniyle negatif yüklenmiştir. Hirdoksil ve silanol gruplarını içeren kil mineralleri katyon durumundaki Cr(III) için iyi bir adsorbent olmuştur [3]. SiO_2 , kaolinit ve montmorilinite ait PZC değerleri ise sırasıyla 4,6 ve 2,5'dir (Çizelge 3.1, şekil 4.1). Buna bağlı olarak çalışılan pH aralıkları, toprak bileşenlerinin kendine özgü PZC değerlerinin üzerinde olduğu için, bu bileşenlerin yüzeyleri negatif olarak yüklenmiştir. pH artışıyla, PZC değerlerinde daha çok sapma olduğundan dolayı, toprak yüzeyi, pH artışına bağlı olarak daha çok negatif olarak yüklenmiş ve dolayısıyla Cr(III) adsorpsiyonu artmıştır.

Gerçekleşen kimyasal olayın yüzeye çökelmeyi içermediği söylenebilir. Bunun nedeni çalışılan Cr(III) konsantrasyonunun çok düşük olması ve Cr(III)'ün pH<8 olması durumunda çökeliyor olmasıdır.

4.6.2. *P. aeruginosa* P16 Bakterisinden İzole Edilen EPS'nin pH'a Bağlı Olarak Toprağa Adsorpsiyonu

I= 0.01 M koşulunda, 3 g/L toprak ve 50 ppm EPS içeren örneklerin pH değişimine bağlı olarak toprağa adsorpsiyonu şekil 4.10'da gösterilmiştir. EPS adsorpsiyonu, EPS'deki temel kompleks yapıcı bileşen olduğu daha önceden belirlenen fosfat gruplarının adsorpsiyonu üzerinden değerlendirilmiştir.



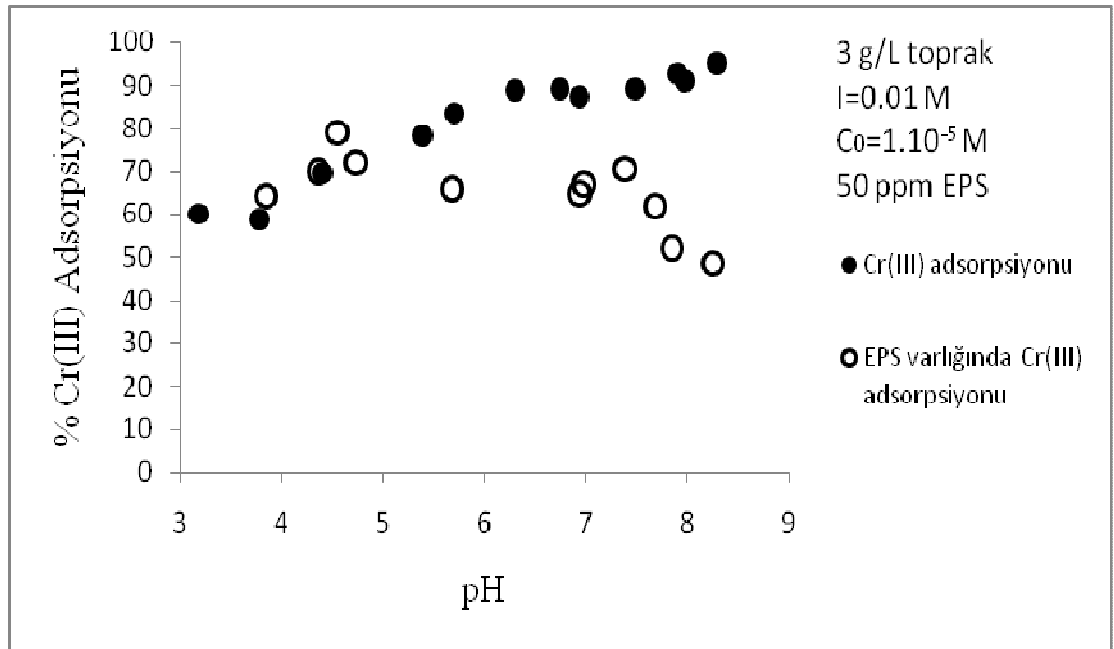
Şekil 4.10. *P. aeruginosa* P16 bakterisinden izole edilen EPS'nin pH'a bağlı olarak toprağa adsorpsiyonu

Yukarıda açıklandığı şekilde pH artışına bağlı olarak daha çok negatif yüklenen toprak yüzeyi, sulu çözeltilerde anyonik formda bulunan PO_4^{3-} iyonlarına

karşı ilgi göstermemektedir. Bu nedenle pH artışına bağlı olarak fosfat iyonu dolayısıyla EPS adsorpsiyonu azalmıştır. Grafikte, pH 4-6 arasında fosfat iyonu adsorpsiyonu pH ile doğru orantılı olarak tam tersine artış göstermektedir. Önceden belirtildiği gibi pKa 6 ve pKa 8 ile ifade edilen fosforik asit bu pH aralıklarında reaktif değildir. EPS’de yer alan diğer gruplarla bir koordinasyon içerisinde bulunan fosfatın adsorpsiyonunun, bu nedenle bu pH aralığında bir genelleme yapılmaksızın arttığı söylenebilir.

4.6.3. Cr(III)’ün *P. aeruginosa* P16 Bakterisinden İzole Edilen EPS Varlığında, pH’a Bağlı Olarak Toprağa Adsorpsiyonu

3 g/L toprak ve 50 ppm EPS içeren, 0,01 M iyonik güce sahip örneklerde pH’ya bağlı Cr(III) adsorpsiyonu, şekil 4.11’te gösterilmiştir.

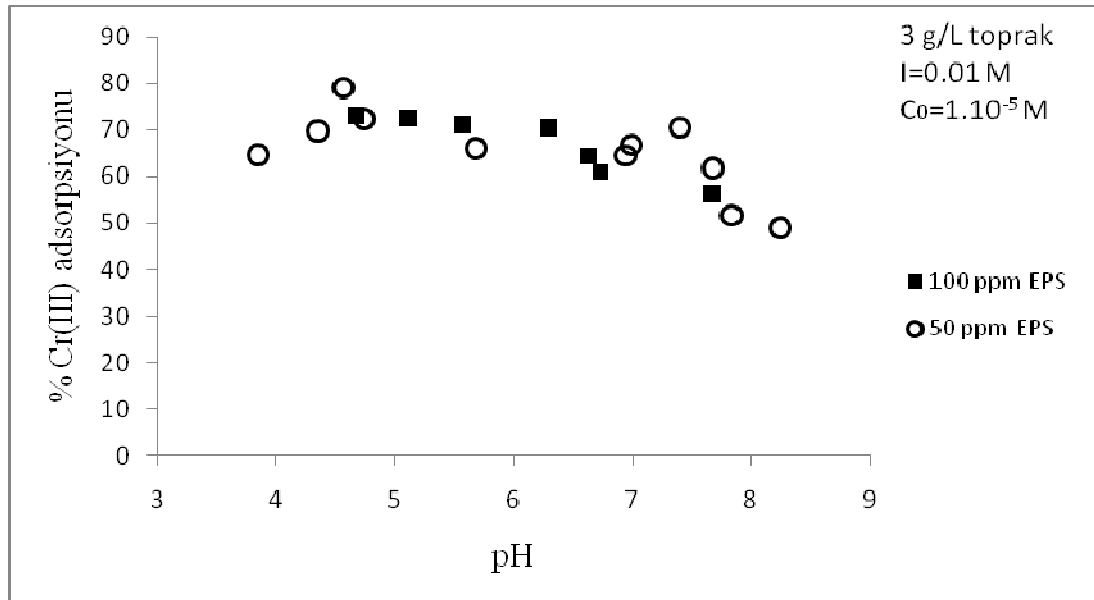


Şekil 4.11. Cr(III)’ün 50 ppm *P. aeruginosa* P16 bakterisinden izole edilen EPS varlığında, pH’a bağlı olarak toprağa adsorpsiyonu

Grafikte görüldüğü üzere düşük pH'larda EPS varlığının, Cr(III) adsorpsiyonu üzerinde herhangi bir etkisi olmamıştır. Bunun nedeni temel kompleks yapıcı ligand olarak saptanan fosfat iyonlarının düşük pH'larda reaktif olmamasıdır. Yaklaşık pH 6 ve yukarısında adsorpsiyonun azaldığı görülmektedir. Artan pH'a bağlı olarak negatifliğe kayan toprak yüzeyine Cr(III) adsorpsiyonunun azalması için neden, katyonik durumdaki Cr(III) iyonunun EPS ile kompleks oluşturması ve kompleks oluşumuyla daha kararlı bir hale bürünen Cr(III)'ün, toprak yüzeyine tutunamaması yada EPS'nin toprak yüzeyine tutanarak Cr(III) adsorbe olacağı siteleri işgal etmesi olabilir. Bu iki durumun her ikisinde gerçekleşmiş olabilir.

4.6.4. *P. aeruginosa* P16 bakterisinden izole edilen farklı konsantrasyonlardaki EPS'nin, pH'a bağlı Cr(III) adsorpsiyonuna etkisi

3 g/L toprak, iyonik gücü 0,01 M olan örneklerde 50 ve 100 ppm olmak üzere farklı EPS konsantrasyonlarının Cr(III) adsorpsiyonuna etkisi şekil 4.12'de görülmektedir.

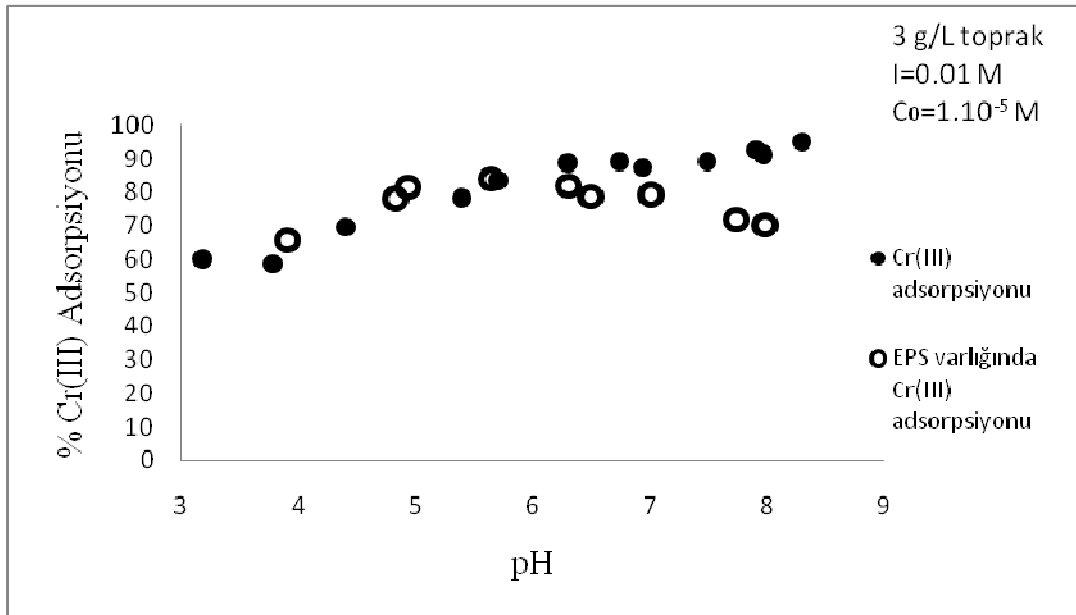


Şekil 4.12. Farklı EPS konsantrasyonlarının Cr(III) adsorpsiyonuna etkisi

Şekil 4.12’de, farklı EPS konsantrasyonlarının Cr(III) adsorpsiyonu üzerinde etkisi olmadığı görülmektedir. Eğer EPS’de yer alan fonksiyonel grupların tamamı Cr(III) ile kompleks oluşturmuş olsaydı, farklı EPS konsantrasyonlarında farklı adsorpsiyon verimleri sağlanacaktı. Bu durum, yukarıda da söylendiği üzere, EPS’nin Cr(III) kompleks oluşumundan sonra bile yüzeyinde bol miktarda fonksiyonel grup içerdiğinin bir kanıtıdır.

4.6.5. Cr(III)’ün *P. putida* P18 Bakterisinden İzole Edilen EPS Varlığında, pH’a Bağlı Olarak Toprağa Adsorpsiyonu

3 g/L toprak ve 50 ppm EPS içeren, 0,01 M iyonik güce sahip örneklerde pH’ya bağlı Cr(III) adsorpsiyonu, şekil 4.13’te gösterilmiştir.



Şekil 4.13. Cr(III)’ün 50 ppm *P. putida* P18 bakterisinden izole edilen EPS varlığında, pH’ya bağlı olarak toprağa adsorpsiyonu

Şekil 4.13'te görüldüğü üzere, düşük pH'larda EPS varlığının, Cr(III) adsorpsiyonu üzerinde herhangi bir etkisi olmamıştır. Bunun nedeni temel kompleks yapıcı ligand olarak saptanan fosfat iyonlarının düşük pH'larda reaktif olmamasıdır. Yaklaşık pH 6 ve yukarısında adsorpsiyonun azaldığı görülmektedir. Artan pH'a bağlı olarak negatifliğe kayan toprak yüzeyine Cr(III) adsorpsiyonunun azalması için neden, katyonik durumdaki Cr(III) iyonunun EPS ile kompleks oluşturması ve kompleks oluşumuyla daha kararlı bir hale bürünen Cr(III)'ün, toprak yüzeyine tutunamaması ya da EPS'nin toprak yüzeyine tutularak Cr(III) adsorbe olacağı siteleri işgal etmesi olabilir. Bu iki durumun her ikisinde gerçekleşmiş olabilir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. SONUÇLAR

Bu araştırma, topraktaki kromun mikrobiyal indirgenmesi sürecinde oluşan bakteriyel ekzopolimerik maddelerin (EPS), Cr(III) taşınımı üzerine etkisinin bilinmemesi üzerine oluşan bilgi boşluğunu doldurmak adına yapılmıştır. EPS'nin Cr(III) ile etkileşimi ve buna bağlı olarak Cr(III)'ün toprağa adsorpsiyonuna etkileri belirlenmiştir.

EPS'nin kromla yaptığı etkileşimin belirlenmesi için öncelikle *Pseudomonas* türlerine ait EPS'nin içeriği saptanmıştır. Her iki EPS türünde şeker miktarları hariç, EPS bileşenleri miktarlarında benzerlik olduğu saptanmıştır.

Yapılan iyon değişimi deneylerinde EPS'nin kromla kompleks oluşmak suretiyle etkileşime girdiği kanıtlanmıştır. İyon değişimi deneylerine ilaveten, potansiyometrik titrasyon deneylerinde de elde edilen bulgularla gerçekleştirilen simülasyonda, her iki EPS türünün içeriğindeki fosfat gruplarının kromla kompleks oluşturan temel fonksiyonel grup olduğu belirlenmiştir. Buna ilaveten karboksilik gruplar da önemli kompleks yapıcı sitelerden biri olarak bulunmuştur. Daha önce yapılan çalışmalardan farklı olarak temel kompleks yapıcı site olarak fosfat gruplarının belirlenmesi çalışmanın daha özgün bir hale gelmesine neden olmuştur.

Araştırmanın temelini oluşturan kesikli adsorpsiyon testlerinden elde edilen sonuçlar, toprakta biyolojik olarak krom gideriminin çok iç açıcı olarak sonuçlanmadığını göstermektedir.

Sadece Cr(III)'ün toprağa adsorpsiyonu testlerinde artan pH'ya bağlı olarak Cr(III) adsorpsiyonu artmıştır. Bunun nedeni sulu çözeltilerde katyon durumunda olan Cr(III)'ün, pH yükseldikçe negatifliğe kayan toprak yüzeyine olan ilgisinin artmasıdır.

P. aeruginosa P16 bakterisinden elde edilen EPS, toprağa Cr(III) adsorpsiyonunu düşük pH'larda etkilememektedir. Fakat doğal toprak pH'larında Cr(III) adsorpsiyonu azaltmak suretiyle bir etkisi olmuştur.

P. putida P18 bakterisinden elde edilen EPS'de aynı şekilde toprağa Cr(III) adsorpsiyonunu azaltmıştır.

5.2. ÖNERİLER

Mikrobiyolojik Cr(VI) indirgenmesi sürecinde, mikroorganizmalarca ortama yayılan EPS'nin yeni oluşan Cr türüyle girdiği etkileşimler hakkında literatürde herhangi bir bilgi mevcut değildir.

Elde edilen deney sonuçlar, ortamdaki EPS'nin krom taşınımını arttırdığı şeklindedir. Bu durumun, biyoremediasyon ile ağır metal giderimde mutlaka göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Laboratuarda kurulacak bir model referans alınarak biyoremediasyon koşulları önceden belirlenmelidir.

Adsorpsiyon deneylerini desteklemek adına kolon deneyleri yapılmalıdır. Bu sayede yeraltı sistemine daha yakın sonuçlar elde edilebilir.

Cr(III)-EPS kompleksleri üzerinde daha fazla bilgi sahibi olmak için FTIR analizleri yapılmalıdır. EPS'nin tam olarak karakterize edilmesi (ör: şeker türleri, protein türleri vb.), Cr(III)-EPS etkileşimlerini daha iyi anlamaya yardımcı olacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Zayed, A.M. ve Terry, N., “Chromium in the environment: factors affecting biological remediation”, **249**: 139-156, (2003).
- [2] Köleli, N., “Speciation of chromium in 12 agricultural soils from Turkey”, *Chemosphere*, **57**: 1473-1478, (2004).
- [3] Davis, J.A., Kent, D.B., “Surface complexation modeling in aqueous geochemistry. In: *Mineral-Water Interface Geochemistry*”, *Rev. Mineral.*, **23**, Edited by M.F. Hochella and A.F. White, Mineral, Soc. of Am., Washington, 177-259, (1990).
- [4] Rudd, T., Sterritt, R. M., Lester, J. N., “Formation and conditional stability constants of complexes formed between heavy metals and bacterial extracellular polymers”, *Water Res.*, **18**: 379-384, (1984).
- [5] Kantar, C., Honeyman, B. D., “Plutonium (IV) complexation with citric and alginic acids at low Pu_T concentrations”, *Radiochimica Acta*, **93(12)**: 757-766. (2005).
- [7] Priester, J. H., Olson, S. G., Webb, S. M., Neu, M. P., Hersman, L. E. Ve Holden, P. A., “Enhanced exopolymer production and chromium stabilization in *Pseudomonas putida* unsaturated biofilms”, *Applied and Environmental Microbiology*, **72(3)**: 1988-1996, (2006).
- [6] Puzon, G.J., Roberts, A.G., Kramer, D.M., Xun, L., “Formation of soluble organo-chromium(III) complexes after chromate reduction in the presence of cellular organics”, *Environ. Sci. Technol.*, **39**: 2811-2817, (2005).
- [8] Comte, S., Guibaud, G., Baudu, M., “Biosorption properties of extracellular polymeric substances (EPS) towards Cd, Cu and Pb for different pH values”, *Journal of Hazardous Materials*, **151**: 185-193, (2008).

- [9] Laspidou, C.S., Rittmann, B.E., “A unified theory for extracellular polymeric substances, soluble microbial products and active and inert biomass”, *Water Res.*, **36**: 2711-2720, (2002).
- [10] Davies, D.G., Regulation of matrix polymer in biofilm formation and disersion. In: Wingender, J., Neu, T.R., Flemming, H.C. (eds), *Microbial extracellular polymeric substances: characterization, structure and function*. Berlin, Springer. (1999).
- [11] Kılıç, N. K., Dönmez, G., “Environmental conditions affecting exopolysaccharide production by *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus* sp., and *Ochrobactrum* sp.”, *Journal of Hazardous Materials*, **154 (1-3)**:1019-1024, (2008).
- [12] Sabra, W., Zeng, A.P., Deckwar, W.D., “Bacterial alginate: physiology, product quality, and process aspects”, *App. Microbiol. Biotechnol.*, **56**: 315-325, (2001).
- [13] Sheng, G-P., Yu, H-Q., Yue, Z-B., “Production of extracellular polymeric substances from *Rhodopseudomonas acidophila* in the presence of toxic substances”, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **69**: 216-222, (2005).
- [14] Aquino, S.F., Stuckey, D.C., “Soluble microbial products formation in anaerobic chemostats in the presence of toxic compounds”, *Water Res.* 38, 255-266, (2004).
- [15] Costerton, J.W., Geesey, G.G., Cheng, K.J., 1978. How bacteria stick. *Sci. Am.* 238, 86-95.
- [16] Hung C.C., Santschia P.H. Gillow J.B., “Isolation and characterization of extracellular polysaccharides produced by *Pseudomonas fluorescens* Biovar II” *Carbohydrate Polymers* **61**: 141–147 (2005).
- [17] Wingender, J., Neu, T.R., Flemming, H.C., “What are bacterial extracellular polymeric substances?” In: Wingender, J., Neu, T.R., Flemming, H.C. (eds). *Microbial extracellular polymeric substances: characterization, structure and function*. Berlin, Springer, (1999)

- [18] Guibaud, G., Tixier, N., Bouju, A., Baudu, M., “Use of a polarographic method to determine copper, nickel and zinc constants of complexation by extracellular polymers extracted from activated sludge”, *Process Biochemistry*, **39**: 833-839. (2004).
- [19] Guibaud G. ve ark., “Comparison of the complexation potential of extracellular polymeric substances (EPS), extracted from activated sludges and produced by pure bacteria strains, for cadmium, lead and nickel”, *Chemosphere* **59**: 629-638, (2005).
- [20] Guibaud, G., van Hullebusch, E., Bordas, F. “Lead and cadmium biosorption by extracellular polymeric substances (EPS) extracted from activated sludges: pH sorption edge tests and mathematical equilibrium modeling”, *Chemosphere* **64**: 1955, (2006).
- [21] Harper, R. M., Kantar, C., Honeyman, B. D., “Binding of Pu(IV) to galacturonic acid and extracellular polymeric substances (EPS) from *Shewanella Putrefaciens*, *Clostridium* sp. and *Pseudomonas fluorescens*”, *Radiochim. Acta*, “Yayınlanmamıştır”, (2008).
- [22] Proctor D.M. ve Finley B.L., “Chromium In Soil”, Lewis Publishers, New York, USA, pp, 562-578, (1997).
- [23] Bilgiç S. ve Caner N., “Anorganik Kimya”, Anadolu Üniversitesi Yayınları, Eskişehir, pp 254-256, (1991).
- [24] Maciel G.E. etc., “Chemistry”, D.C. Heath and Company, Lexington, USA, 912, (1978).
- [25] Özbek H. ve ark, “Toprak Bilimi”, Çeviri: Schachtschabel P., Ç.Ü., Ziraat Fak. Genel Yayınları, Adana, 816, (1993).
- [26] Morrison R.D. ve Murphy B.L., “Environmental Forensic Contaminant Specific Guide”, Elsevier Inc, USA, 579 s., (2006).
- [27] www.cevreorman.gov.tr/yasa/y/25831.doc

- [28] Yong, R.N. ve ark., “Principles of contaminant transport in soil”, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 327 s., (1992).
- [29] Spark D.L., “Environmental Soil Chemistry”, Elsevier Science Publishers, USA, 352 s., (2003).
- [30] Hillol Guha ve ark., “Chromium transport, oxidation and adsorption in manganese-coated sand”, Journal of contaminant hydrology, **49**: 311-334, (2001)
- [31] Czaczyk K., Myszka K., “Biosynthesis of extracellular polymeric substances (EPS) and its role in microbial biofilm formation”, Polish J. Of Environ. Stud., **16(6)**:799-806, (2007)
- [32] Lindhorst T.K., “Essentials of carbohydrate chemistry and biochemistry”, Wiley-VCH; 3 Rev Enl edition, 332 s., (2007)
- [33] Donohue T.M. ve ark., (20 Kasım 2004), Intracellular Proteolytic Systems in Alcohol-Induced Tissue Injury, Erişim: <http://pubs.niaaa.nih.gov/publications/arh27-4/images/donohue1.gif>
- [34] Carnegie Mellon university, (2006), Department of Biological Sciences, Erişim: <http://telstar.ote.cmu.edu/biology/MembranePage/images/phospholipid.jpg>
- [35] Yılmaz M., Yuvalı Celik G., (2007), “ Bakteriyel Ekstraselüler Polisakkaritler (EPS)”, orlab on-line On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, Erişim: www.mikrobiyoloji.org/pdf/702070202.pdf
- [36] Kantar ve ark., “Yer altı Sistemlerinde Krom bileşiklerinin Biyokimyasal Döngüsü ve Krom ile Kirli Toprakların Biyoremediasyonu İçin Optimum Koşulların Belirlenmesi”, 105 Y 272 no’lu TUBİTAK projesi 2. Dönem Ara Raporu, Mersin Üniversitesi, Çiftlikköy Kampusu, (2007) “Yayınlanmamıştır”.
- [37] Shirvani ve ark., “Sorption of cadmium on palygorskite, sepiolite and calcite: Equilibria and organic ligand affected kinetics”, Colloid and surfaces, **287**: 182-190, (2006)

- [38] Kantar Ç., Çetin Z., Demiray H. “In situ stabilization of Cr(VI) in polluted soils using organic ligands: The role of galactronic, glucuronic and alginic acids”, *Journal of Hazardous Materials*, **7**, (2008)
- [39] Salehizadehve H., Shojaosadati S.A., “Removal Of Metal Ions From Aqueous Solution By Polysaccharide Produced From *Bacillus Firmus*”, *Water Research*, **27**: 4231-4235, (2003).
- [40] Bhaskar P.V., Bhosle N. B., “Bacterial extracellular polymeric substance (EPS): A carrier of heavy metals in the marine food-chain”, *Environment International*, **32**: 191-198, (2006).
- [41] Kang S. ve ark., “Biosorption of Cr(III) and Cr(VI) onto the cell surface of *Pseudomonas aeruginosa*”, *Biochemical Engineering Journal*, **36**: 54-58, (2007).
- [42] Clace N. ve ark., “Characterics of different molecular weight fractions of organic matter in landfill leachate and their role in soil sorption of heave metals”, *Environmental Pollution*, **113**: 331-339, (2001).
- [43] Borrok D.M. ve Fein J.B., “The impact of ionic strength on the adsorption of protons, Pb, Cd, and Sr onto the surfaces of Gram negative bacteria: testing non-electrostatic, diffuse, and triple-layer models”, *Journal Of Colloid And Interface Science*, **286**: 110-125, (2005).
- [44] Puzon ve ark., “Mobility and recalcitrance of organo-chromium(III) complexes”, *Chemosphere*, **70**: 2054-2059, (2008)
- [45] Jackson, M. L., “Soil Chemical Analysis”, Prentice-Hall, Inc.Eng., Cliffs. N. J. USA, (1962).
- [46] Kacar, B., “Toprak Analizleri (Bitki Ve Toprağın Kimyasal Analizleri:III)”, A. Ü. Ziraat Fakültesi Eğitim Araştırma Ve Geliştirme Vakfı Yayınları, No: 3. Ankara, (1995).
- [47] Richards, L. A., “Diagnosis and Improvement Saline and Alkaline Soils”, U. S. Dep. Agr. Handbook 60, (1954).

- [48] Soil Survey Staff, “Soil Survey Manual USDA Agriculture Handbook” No. 18, Soil Conservation Service, U. S. Department of Agriculture, Washington, DC., (1962).
- [49] Olsen, S. R., Cole, C. V., Vatanabe, F. S., Dean, L. A., “Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate”, U. S. Dep. Of Agric. Circ., Washington D. C. 939, (1954).
- [50] USEPA, “Test Methods for Evaluating Solid Wastes, Physical/Chemical Methods”, SW-846 2nd Ed. Office of Solid Waste and Emergency Response. Washington, D.C., (1984).
- [51] DIN 38414-S4, “German Standard Methods for the Examination of Water, Wastewater and Sludge. Sludge and Sediment Group” (group S): Determination of Leachability by Water, VCH-Verlag, Weinheim, (1984).
- [52] Carter, D.L., M.D. Heilman, and C.L. Gonzalez., “Ethylene Glycol Monoethyl Ether for Determining Surface Area of Silicate Minerals”, Soil Sci., **100**:356–360, (1965).
- [53] Bouyoucos, G. J., “Hydrometer Method Improved for Making Particle Size Analysis Of Soil”, Agron. J., **54 (5)**: 466-465, (1952).
- [54] Southgate, D. A. T., “Determination of Food Carbohydrates”, Applied Science Publishers Ltd, England, (1976).
- [55] Hartree, E.F., “Determination of protein: a modification of Lowry method that gives a linear photometric response” Anal. Biochem., **48**: 122-127, (1972).
- [56] Hung, C. C., Santschi, P. H., “Spectrophotometric determination of total uronic acids in sea-water using cation exchange separation and pre-concentration by lyophilization”, Analytica Chmica. Acta, **427**: 111, (2001).
- [57] Schubert, J., “The use of ion exchangers for the determination of physical chemical properties of substance particularly radiotracers in solution. I. Theoretical”, Journal of Phys. and Coll. Chemistry , **52**: 340-350, (1948).

- [58] Mantoura, R.F.C., Riley, J.P., “The use of gel filtration in the study of metal binding by humic acids and related compounds”, *Anal. Chim. Acta*, **78**: 193-200, (1975).
- [59] Jang, L.K., Nguyen, D., Geesey, G.G., “Selectivity of alginate gel for Cu over Zn when acidic conditions prevail.”, *Water Res.*, **33**: 2817-2825, (1999).
- [60] Kantar, C, Jeff G., Ruth Harper-A., Honeyman, B .D., Arokiasamy J. F., “Determination of Stability Constants of U(VI)-Fe(III)-Citrate Complexes Environmental Science and Technology”, **39**: 2161-2168, (2005).
- [61] Herbelin, A. L., Westall, J. C., FITEQL, “A Computer Program for Determination of Chemical Equilibrium Constants” Version 4.0, Report 99-01, Department of Chemistry, Oregon State University: Corvallis, OR., (1999).
- [62] Rai, D., Sass, B. M., Moore, D. A., “Chromium (III) hydrolysis constants and solubility of chromium (III) hydroxide. *Inorg. Chem.*” **26**: 345-349, (1987).
- [63] Yun, Y-S., Park, D., Park, J. M., Volesky, B., “Biosorption of trivalent chromium on the Brown Seaweed Biomass”, *Environ. Sci. Technol.*, **35**: 4353-4358, (2001).
- [64] Han, X., Wong, Y. S., Tam, N. F. Y., “Surface complexation mechanism and modeling in Cr(III) biosorption by a microalgal isolate, *Chlorella miniata*”, *J. Colloid. Interface Sci.*, **303**: 365-371, (2006).
- [65] Westall, J. C., Jones, J. D., Turner, G. D., Zachara, J. M., “Models for association of metals with heterogeneous sorbents. 1. Complexation of Co(II) by leonardite humic acid as a function of pH and NaClO₄ concentration”, *Environ. Sci. Technol.* **29**: 951-959, (1995).
- [66] Kinniburgh, D.G. ve ark., “Metal ion binding by humic acid: Application of the NICA-Donnan model”, *Environ. Sci. Technol.* **30**: 1687-1698, (1996).

- [67] Liu, H. ve Fang, H. H. P., “Characterization of electrostatic binding sites of extracellular polymers by linear programming analysis of titration data” *Biotechnol. Bioeng.* **80**: 806-811, (2002).
- [68] Lamelas, C. ve ark., “Characterization of H⁺ and Cd²⁺ binding properties of the bacterial exopolysaccharides”, *Chemosphere*, **65 (8)**:1362, (2006).
- [69] Kantar, C., Honeyman, B. D., “Citric Acid Enhanced Remediation of Soils Contaminated with Uranium by Soil Flushing and Soil Washing”, *Journal of Environmental Engineering*, **132 (2)**: 247-255, (2006).
- [70] Kalaycıoğlu, L. ve ark., “Biyokimya”, Nobel Yayın Dağıtım”, Ankara, (2000).
- [71] Dzombak, D. A., Morel, F.M.M., “Surface Complexation Modeling: Hydrous Ferric Oxide”, Wiley, New York, 416 s., (1990).
- [72] Fein, J. B. ve ark., “A chemical equilibrium model for metal adsorption onto bacteria surfaces” *Geochim. Cosmochim. Acta* ,**61(16)**: 3319-3328, (1997).
- [73] National Center for Biotechnology Information (NCBI), Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=pccompound>
- [74] Lenhart, J.J., Honeyman, B.D., “Uranium(VI) sorption to hematite in the presence of humic acid” *Geochim. Cosmochim. Acta*, **63**: 2891-2901, (1999).

ÖZGEÇMİŞ

05.10.1982 tarihinde Kayseri’de doğdu. İlkokulu Sivas Selçuk İlkokulu’nda, ortaokulu Mersin Barbaros İlköğretim Okulu’nda, liseyi Atatürk Anadolu Teknik, Teknik ve Endüstri Meslek lisesi’nde tamamladı. Liseden kimya teknisyeni olarak 1999 yılında mezun oldu. 2000 yılında Mersin Üniversitesi Mersin Meslek Yüksekokulu Kimya Bölümü’nü kazanarak, 2002’de kimya teknikeri olarak mezun oldu. Aynı yıl Mersin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü’nde eğitime başladı. 2005’de bu bölümden mezun olarak aynı yıl Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’ne bağlı olarak Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı.