

T.C.
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Co(II), Cr(III) ve Ni(II) METAL İYONLARININ SULU
ORTAMLARDA *Mucor pusillus* (Lindt., 1886) İMMOBİLİZE
EDİLMİŞ AKTİF Al₂O₃ BİYOKOMPOZİTTE
ZENGİNLEŞTİRİLME ŞARTLARININ ARAŞTIRILMASI
ve ALEVLİ AAS ile TAYİNİ

Tezi Hazırlayan
Murat ÇETİNKAYA

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Sıtkı BAYTAK

Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Ocak 2015
NEVŞEHİR

**T.C.
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Co(II), Cr(III) ve Ni(II) METAL İYONLARININ SULU
ORTAMLARDA *Mucor pusillus* (Lindt., 1886) İMMOBİLİZE
EDİLMİŞ AKTİF Al₂O₃ BİYOKOMPOZİTTE
ZENGİNLEŞTİRİLME ŞARTLARININ ARAŞTIRILMASI
ve ALEVLİ AAS ile TAYİNİ**

**Tezi Hazırlayan
Murat ÇETİNKAYA**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Sıtkı BAYTAK**

**Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Ocak 2015
NEVŞEHİR**

Doç. Dr. Sıtkı BAYTAK danışmanlığında **Murat ÇETİNKAYA** tarafından hazırlanan "**Co(II), Cr(III) ve Ni(II) Metal İyonlarının Sulu Ortamlarda *Mucor pusillus* (Lindt., 1886) immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ Biyokompozitte Zenginleştirilme Şartlarının Araştırılması ve Alevli AAS ile Tayini**" başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

29/01/2015

JÜRİ

Başkan

:Doç. Dr. Aslıhan KARATEPE



Üye

:Doç. Dr. Sıtkı BAYTAK



Üye

:Yrd. Doç. Dr. Ramazan MERT



ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 30.01.2015...tarih ve 05-03..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

19/1/2015
Doç. Dr. Şahlan ÖZTÜRK
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİM SAYFASI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada yer alan bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu ve bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



Murat ÇETİNKAYA

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince tüm bilgilerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, her türlü konuda desteğini benden esirgemeyen ve tezimde büyük emeği olan, aynı zamanda bana bir meslektaş olarak yaklaşan Sayın Hocam Doç. Dr. Sıtkı BAYTAK'a,

Manevi olarak her zaman desteklerini hissettiren sevgili Eşim Nagihan ÇETİNKAYA ve Kızım Elvin Tuğsem ÇETİNKAYA'ya,

Lisans eğitimimi tamamladığım günden beri sürekli beni Yüksek Lisans Eğitimi almam konusunda teşvik eden Babam Ali İhsan ÇETİNKAYA'ya

Ders aşamasındaki desteklerinden dolayı Doç. Dr. Aslıhan KARATEPE ve Yard. Doç. Dr. Dilek NARTOP'a,

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde analizlerin yapılmasında yardımcı olan Ahi Evran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Harun ÇİFTÇİ' ye teşekkürlerimi sunarım.

Co(II), Cr(III) ve Ni(II) METAL İYONLARININ SULU ORTAMLARDA *Mucor pusillus* (Lindt., 1886) İMMOBİLİZE EDİLMİŞ AKTİF AL₂O₃ BİYOKOMPOZİTTE ZENGİNLEŞTİRİLME ŞARTLARININ ARAŞTIRILMASI ve ALEVLİ AAS ile TAYİNİ

(Yüksek Lisans Tezi)

**NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Ocak 2015

ÖZET

Bu çalışmada, *Mucor pusillus* immobilize edilmiş aktif alüminyum oksit üzerinde Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarının katı faz özütleme yöntemi ile zenginleştirilme şartları araştırıldı. Metal iyonlarının tayinleri yüksek çözünürlüklü alevli atomik absorpsiyon spektroskopisi cihazı ile yapıldı. Çalışılan metal iyonların geri kazanma verimine örnek çözeltisinin ortamının pH'sının, elüent çözeltilerinin türü ve derişimi, çözelti akış hızının ve çözelti hacminin etkisi incelendi. Belirlenen en uygun deneysel şartlarda Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarının geri kazanma verimi %95 güven seviyesinde sırasıyla, %99±3, %97±2 ve %98±2 olarak bulundu. Yöntemin kesinliği, çalışılan iyonlar için gözlenebilme sınırı, bilinen miktarda metal iyonları eklenerek ve standart referans maddeler kullanılarak yöntemin doğruluğu belirlendi. Geliştirilen yöntem çeşme suyu, Kızılırmak suyu ve domates yaprağı örneklerinde, çalışılan metal iyonların tayinine uygulandı. Gerçek örnekler için bağıl standart sapma ve bağıl hata değerleri en fazla % 8 olarak bulundu.

Anahtar Kelimeler: *Eser Element, Zenginleştirme, Katı faz özütleme, *Mucor pusillus*, aktif alüminyum oksit, Yüksek çözünürlüklü Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi.*

Sayfa Adedi:73

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Sıtkı BAYTAK

**INVESTIGATION OF THE PRECONCENTRATION CONDITIONS OF Co(II),
Cr(III) and Ni(II) IONS WITH SOLID PHASE EXTRACTION BY USING
FUNGUS (*Mucor pusillus*) IMMOBILIZED ON ACTIVATED ALUMINUM
OXID
(M. Sc. Thesis)**

**NEVŞEHİR HACİ BEKTAS VELİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
January 2015**

ABSTRACT

In this study, preconcentration conditions of Co(II), Cr(III) and Ni(II) ions for *Mucor pusillus* immobilized on activated Al₂O₃ by solid phase extraction method were investigated. *Mucor pusillus* was studied as microorganism. The determination of the trace metal ions was carried out by flame atomic absorption spectrometry. The effect of pH, flow rate and volume of sample solution on the recovery of the studied ions was investigated. The recoveries of Co(II), Cr(III) and Ni(II) ions were found as 99±3%, 97±2%, and 98±2%, respectively for *Mucor pusillus* immobilized on activated Al₂O₃, under the optimum conditions. The accuracy of the method by using addition samples, precision of the method and limit of detection for the studied ions were determined. The proposed method was applied to tap water, Kızılırmak river water and tomato leaves for the determination of the analytes. Relative standard deviation and relative error were found as about 8%, respectively for real samples.

Keywords: *Preconcentration, Solid phase extraction, Trace metals, Mucor pusillus, Activated Al₂O₃, HR-CS flame AAS.*

Page Number:73

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Sıtkı BAYTAK

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	i
TEZ BİLDİRİM SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
RESİMLER LİSTESİ	xiii
SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ	xiv
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
2. BÖLÜM	
GENEL BİLGİLER	4
2.1. Eser Elementlerin Önemi Zenginleştirme Yöntemleri Ve Tayini	4
2.1.2. Ağır metallerin etkileri	4
2.2. Zenginleştirilen Elementlerin Genel Özellikleri	7
2.2. 1. Kobalt (Co)	7
2.2. 2. Krom (Cr)	8
2.2. 3. Nikel (Ni)	9
2. 3. Ayırma ve Zenginleştirme Yöntemleri	10
2.3.1. Sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi ile zenginleştirme	11
2.3.2. Elektrolitik zenginleştirme	11

2.3.3.	İyon değiştirme yöntemi ile zenginleştirme	11
2.3.4.	Uçuculaştırma yöntemi ile zenginleştirme	12
2.3.5.	Birlikte çöktürme yöntemi ile zenginleştirme	13
2.3.6.	Flotasyon yöntemi ile zenginleştirme	13
2.3.7.	Adsorpsiyon (katı-faz özütleme) yöntemi ile zenginleştirme	14
2.3.7.1.	Batch tekniği	15
2.3.7.2.	Kolon tekniği	15
2.3.8.	Yapısal özelliklerin adsorpsiyona etkisi	15
2.3.8.1.	Adsorpsiyon mekanizması	16
2.3.8.2.	Adsorpsiyonla yapılan zenginleştirme çalışmaları	18

3. BÖLÜM

MİKROORGANİZMALARIN ÖNEMİ, ÖZELLİKLERİ VE TUTUNMA

TEKNİKLERİ	23	
3.1.	Mikroorganizmaların Önemi	23
3.2.	Mikroorganizmaların Genel Özellikleri	24
3.3.	Mikroorganizmaların Besin İhtiyaçları İçin Gerekli Maddeler	24
3.4.	Mikroorganizmaların Metallere Tutunması	25
3.5.	Mikroorganizmaların Bir Destek Üzerinde Tutunması Teknikleri	25
3.5.1.	İmmobilizasyon	27
3.5.1.1.	Desteksiz immobilizasyon	27
3.5.1.2.	Destekli immobilizasyon	28
3.5.2.	Hapsetme	28

4.BÖLÜM

ATOMİK SPEKTROSKOPİ 29 |

4.1.	Atomik Apsorpsiyon Spektroskopisi	31
------	---	----

4.1.1.	Sistemin temel bileşenleri	32	
4.1.2.	Işın kaynakları	34	
4.1.2.1	Oyuk Katot Lambası (OKL)	34	
4.1.2.2.	Elektrotsuz Boşalım Lambası (EBL)	35	
4.1.2.3.	Sürekli radyasyon kaynağı ksenon lamba	36	
4.1.3.	Monokramatörler	36	
4.1.4.	Dedektörler	37	
4.1.5.	Atomik Absorbsiyon Spektrometresinde görülen girişimler	37	
4.1.5.1.	Kimyasal girişimler	38	
4.1.5.2.	Fiziksel girişimler	38	
4.1.5.3.	İyonlaşma girişimi	38	
4.1.5.4.	Spektral girişimler	39	
4.1.5.5.	Zemin girişimi	39	
4.1.6.	Alevli AAS'nin diğer spektroskopik tekniklerle karşılaştırılması	40	
4.2.	AAS'nin Analitik Performansı İle İlgili Terimler	40	
4.2.1.	Duyarlık	41	
4.2.2.	Doğruluk	42	
4.2.3.	Kesinlik	42	
4.2.4.	Gözlenebilme sınırı (LOD)	42	
4.2.5.	Tayin sınırı (LOQ)	43	
5.BÖLÜM			
DENEYSEL KISIM			44
5.1.	Kullanılan Aletler	44	
5.2.	Aktive Edilmiş Alüminyum Oksit'in Deneye Hazırlanması	44	
5.3.	Biyokompozitin Hazırlanması	45	

5.4.	Adsorbsiyon Kolonunun Hazırlanması	45
5.5.	Kimyasal Maddelerin Hazırlanmaları	46
5.5.1.	Stok kobalt(II) çözeltisi, 10.000 µg/mL'lik	46
5.5.2.	Stok krom(III) çözeltisi, 10.000 µg/mL'lik	47
5.5.3.	Stok nikel(II) çözeltisi; 10.000 µg/mL'lik	47
5.5.4.	Sodyum stok çözeltisi, 1000 mg/L'lik	47
5.5.5.	Potasyum stok çözeltisi, 1000 mg/L'lik	47
5.5.6.	Kalsiyum stok çözeltisi, 1000 mg/L'lik	47
5.5.7.	Magnezyum stok çözeltisi, 1000 mg/L'lik	47
5.5.8.	Standart çözeltiler; 1000 µg/mL'lik ve 100 µg/mL'lik	48
5.5.9.	Hidroklorik asit çözeltisi;2 mol/L'lik	48
5.5.10.	Hidroklorik asit çözeltisi;1 mol/L'lik	48
5.5.11.	Hidroklorik asit çözeltisi;0,5 mol/L'lik	48
5.5.12.	Nitrik asit çözeltisi; 2 mol/L'lik	48
5.5.13.	Nitrik asit çözeltisi; 1 mol/L'lik	48
5.5.14.	Nitrik asit çözeltisi; 0,5 mol/L'lik	49
5.5.15.	Kalibrasyon çözeltileri	49
5.5.16.	Model örnek çözeltileri	49
5.6.	Zenginleştirme İşlemi ve Hesaplama Yöntemi	49
5.7.	Zenginleştirme İçin En Uygun Şartların Belirlenmesi	50
5.7.1.	pH'nın çalışılan elementlerin geri kazanma verimine etkisi	50
5.7.2.	<i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş aktif Al ₂ O ₃ biyokompozit miktarının geri kazanma verimine etkisi	51
5.7.3.	Eluent çözeltisinin geri kazanma verimine etkisi	52
5.7.4.	Örnek çözelti akış hızının geri kazanma verimine etkisi	53

5.7.5.	Örnek çözelti hacminin geri kazanım verimine etkisi	54	
5.7.6.	Diğer iyonların Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarının geri kazanma verimine etkisi	55	
5.8.	Yöntemin Kesinliği ve Gözlenebilme Sınırı	57	
5.9.	Kolonların Kullanım Sayıları	58	
5.10.	Doğruluk ve Uygulama	58	
5.10.1.	Standart referans maddenin analize hazırlanması	58	
5.10.2.	Domates yaprağı örneklerinde Co(II), Cr(III) ve Ni(II) tayini	59	
5.10.3.	Su örneklerinin analize hazırlanması	60	
6.BÖLÜM			
TARTIŞMA VE SONUÇLAR			61
6.1.	pH'nın Geri Kazanma Verimine Etkisi	62	
6.2.	Biyokompozit Miktarının Geri Kazanma Verimine Etkisi	62	
6.3.	Eluent Çözeltisinin Geri Kazanma Verimine Etkisi	63	
6.4.	Çözelti Akış Hızının Geri Kazanma Verimine Etkisi	63	
6.5.	Örnek Çözeltisi Hacminin Geri Kazanma Verimine Etkisi	64	
6.6.	Tekrarlanabilirlik	65	
6.7.	Kalibrasyon Grafikleri ve Gözlenebilme Sınırı (LOD)	65	
6.8.	Kolonların Tekrar Kullanılabilirliği	66	
6.9.	Alkali ve Toprak Alkali Metalleri ve Karışım Halinde Bulunan Elementlerin Geri Kazanma Verimine Etkisi	66	
6.10.	Uygulama	67	
6.11.	Sonuçların Özetlenmesi	67	
KAYNAKLAR			69
ÖZGEÇMİŞ			73

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 5.1.	Aletsel parametreler	44
Çizelge 5.2.	Eluent türü ve miktarının <i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş aktif Al_2O_3 biyokompozitin kolonunda Co(II), Cr(III) ve Ni(II)'nin geri kazanma verimine etkisi	53
Çizelge 5.3.	Girişim yapabilecek bazı iyonların Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarının geri kazanma verimine etkisi	56
Çizelge 5.4.	<i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş aktif Al_2O_3 biyokompozitte yöntemin kesinliği	57
Çizelge 5.5.	<i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş aktif Al_2O_3 biyokompozitte standart referans maddede (SRM-1573a Tomato Leaves) Co(II), Cr(III) ve Ni(II) tayini	59
Çizelge 5.6.	<i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş aktif Al_2O_3 biyokompoziti ile domates yaprağı örneklerinde Co(II), Cr(III) ve Ni(II) tayini	60
Çizelge 5.7.	<i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş nano Al_2O_3 biyadsorbenti ile çeşme suyu ve Kızılırmak suyunda Co(II), Cr(III) ve Ni(II) tayini (Çözelti hacmi; 250 mL)	60

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Katı faz özütleme yönteminde dört adım	17
Şekil 3.1.	Mikroorganizmaların gereksinimlerine göre sınıflandırılmaları	24
Şekil 3.2.	Başlıca imobilizasyon yöntemleri	26
Şekil 4.1.	Işın absorpsiyonu ve emisyonu	29
Şekil 4.2.	Atomik absorpsiyon ve emisyon	30
Şekil 4.3.	Atomlarda absorpsiyon ve emisyon olaylarının meydana gelişi	30
Şekil 4.4.	Sodyumun floresans veya rezonans ışınlanması	31
Şekil 4.5.	AAS çalışma şeması	33
Şekil 4.6.	Oyuk katot lambası	35
Şekil 4.7.	Elektroliz boşalım lambası	36
Şekil 4.8.	AAS’de Görünen Zemin Girişimleri	39
Şekil 4.9.	Standart Katma Kalibrasyon Eğrisi	40
Şekil 5.1.	Deneyde kullanılan kolonun şematik görünümü	46
Şekil 5.2.	<i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş aktif Al_2O_3 biyokompozitte pH’nın Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarının geri kazanma verimine etkisi	51
Şekil 5.3.	<i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş aktif Al_2O_3 biyokompozitte, biyoadsorben miktarının Co(II), Cr(III) ve Ni(II)’nin geri kazanma verimine etkisi	52
Şekil 5.4.	<i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş aktif Al_2O_3 biyokompozitte örnek çözeltinin akış hızının Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarının geri kazanma verimine etkisi	54
Şekil 5.5.	<i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş aktif Al_2O_3 biyokompozitin çözelti hacminin Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarının geri kazanma verimine etkisi	55

RESİMLER LİSTESİ

Resim 4.1.	Çeşitli AAS cihazları	32
Resim 4.2.	Alevli AAS cihazı	33
Resim 4.3.	Oyuk katot lambası	35
Resim 4.4.	Ksenon lamba	36

SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ

OKL	Oyuk Katot Lambası
FAAS	Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
LOD	Gözlenebilme sınırı
LOQ	Tayin Sınırı
HR – CS FAAS	Yüksek Çözünürlüklü Alevli Atomik Adsorpsiyon Spektroskopisi

BÖLÜM 1

1. GİRİŞ

Günümüzde sanayileşmenin artması ve atıkların çevreye yayılması sonucunda toksik ve kirletici maddelerde de artışlar meydana gelmektedir. Bu durumda çevreye bağımlı yaşayan canlılarda olumsuz etkilere yol açmaktadır. Eser elementler özellikle insan vücudunda birikim yapmakta ve organizma çalışmalarını olumsuz yönde etkilemektedir. Canlı organizmalar için zararlı olan ve çevre örneklerinde bulunan bu eser elementler, çeşitli biyolojik tepkimelerde gösterdikleri katalitik ve zararlı etkileri nedeniyle günümüzde birinci derecede kirleticiler arasında yer almaktadır. Ancak eser elementlerin toksik etkisi yanında, Fe(III), Cu(II), Mn(II), Zn(II), Co(II) ve Cr(III) gibi elementler, canlıların yaşamında önemli görevler yerine getirmektedir. Bu elementler, gereğinden az alındığında işlevini yeterince yerine getirememekte, fazla alındığında ise zehirlenmelere neden olmaktadır [1]. Bu nedenlerden dolayı eser elementlerin çevre ve insan sağlığı açısından tayini çok önemlidir.

Hg, Cd, Pb, Cr(VI) gibi elementler toksik etki göstermektedirler [2]. Bütün bu elementler çeşitli yollarla çevreye yayılmakta ve farklı yollarla canlılar üzerinde olumsuz etkiler gösterebilmektedir [3]. Eser elementlerin faydalı düzeyleri ile toksik düzeyleri arasında çok az derişim farkı vardır. Bu durumdan dolayı eser elementin varlığı çoğu metaryel için kullanıldığı alana bağılı olarak önem teşkil eder. Çoğu metal ve alaşımın kullanım maksadına göre eser element içermesi gerekir. Çünkü, fiziksel ve kimyasal özellikler mevcut eser elementlerden etkilenir. Bu nedenle, metallurijiden minarellere, su ve gıdaya hatta topraktan havaya kadar pek çok metaryel ve bu alanda eser element analizi yapılması gerekir. Bunun için elementlerin çevredeki derişimlerinin bilinmesi ve bunların sürekli kontrol edilmesi önemlidir.

Eser elementlerin analizi analitik kimya açısından önemli ve güç bir çalışma alanıdır. Su örneklerinde bu elementlerin derişimleri düşük olduğundan ve ortamdaki diğer türlerin girişim etkilerinden ve aletsel sınırlamalardan dolayı bu elementlerin bazı analitik yöntemlerle doğrudan tayini mümkün değildir. Eser elementlerin doğrudan tayini

mümkün olmadığı için örneklerin analizden önce bir ön işleme tabi tutularak eser elementlerin ortamdaki ayrılması ve zenginleştirilmesi gerekmektedir.

Ön işlemler sırasında eser elementlerin bir ortamdaki alınarak daha küçük bir hacme toplanmasına ‘‘zenginleştirme’’ denir. Eser elementlerin zenginleştirmesinde sıvı-sıvı özütleme [4], flotasyon [5], birlikte çöktürme [6], elektrolizle biriktirme [7], iyon değiştirme [8] ve katı faz özütleme (adsorpsiyon) [9] gibi teknikler kullanılmaktadır. Bu zenginleştirme teknikleri içinde son yıllarda en çok tercih edileni adsorpsiyona dayalı zenginleştirme tekniğidir [10]. Eser elementlerin adsorpsiyonla zenginleştirilmesinde, çeşitli doğal [11] ve sentetik [12] polimerlerin kullanıldığı bilinmektedir. Eser elementlerin adsorpsiyonla zenginleştirilmesinde tutunmayı artırmak amacıyla ya elementin uygun bir kompleksi oluşturulmakta [13] ya da uygun kompleksleştirici ligant kolon üzerinde önceden tutturulmaktadır [14].

Son yıllarda, ligant yerine önceden katı faz üzerine tutturulmuş maya, bakteri ve mantar gibi mikroorganizmalar, eser elementleri ortamdaki ayırmak ve zenginleştirmek amacıyla geniş çapta kullanılmıştır [15, 16].

Destek maddesi üzerine tutturulmuş mikroorganizmaların kullanım sayısı, serbest hücrelere göre daha fazladır. Bunların aktivitesi ve seçiciliği de serbest hücrelere göre daha fazladır. Bu nedenle, eser element tayinlerinde katı bir destek maddesi üzerinde mikroorganizma tutturularak yapılan eser element zenginleştirme çalışmalarında artış görülmektedir.

Bu çalışmada, *Mucor pusillus*(Lindt.,1886) mikroorganizması Al_2O_3 üzerine immobilize edilmiştir. Elde edilen biyokompozit kolonlara yerleştirilmiş ve Co(II), Cr(III) ve Ni(II)'nin zenginleştirme şartları araştırılmıştır.

Çalışmada, örnek çözelti ortamının pH'sı, elüent çözeltilerinin türü ve derişimi, örnek çözeltisinin akış hızı ve hacmi gibi parametrelerin çalışılan elementlerin geri kazanma verimine etkisi incelenmiştir.

Bu çalışmada, çalışılan elementlere bazı diğer iyonların girişim etkisi de incelenmiş, geliştirilen en uygun şartlarda yöntemin kesinliği ve elementlerin gözlenebilme sınırları belirlenmiştir.

Geliştirilen yöntem, Kızılırmak suyuna, Nevşehir şebeke suyuna ve domates yaprağına uygulanmıştır. Geliştirilen yöntemin doğruluğu ise standart referans (SRM 1567a Tomato Leaves) maddeye ve bilinen miktarda gerçek numunelere ekleme yöntemi ile tayin etme yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Tüm tayin basamaklarında HR-CS alevli AAS kullanılmıştır.

BÖLÜM 2

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Eser Elementlerin Önemi Zenginleştirme Yöntemleri ve Tayini

Günümüzde hızla ilerleyen çevre kirliliği büyük bir problem oluşturmaktadır. Hava, su, toprak kirliliği, gıda, ilaç ve çevre kimyası açısından eser elementlerin tayini daha da önem kazanmıştır. Özellikle atmosferde bulunan eser elementler gerçekleşen reaksiyonlar sonucunda toksik olmaları sebebiyle birinci derecede kirleticiler arasında yer almaktadır. Hg, Cd, Pb, Cr(VI) gibi elementler çevreye yayılmakta canlı organizmada birikmeler yapmakta ve canlılar üzerinde zehirli etkiler göstermektedir. Bu maddelerin derişimleri eser düzeyde olduğundan bazı analitik yöntemlerle doğrudan tayini mümkün değildir.

Eser element analizi, organik ve inorganik örneklerdeki mg/L, µg/L veya ng/L seviyedeki derişimlerin tayini olarak bilinir. Eser element analizinde kullanılan yöntemlerde standart ile örneğin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin birbirine yakın olması gerekmektedir. Bu yüzden standart hazırlama eser element analizinde önemli sorunlardan birisidir. Bu sorun analiz elementini uygun bir ortama alarak ve deriştirme işlemi yapılarak ortadan kaldırılabilir. Bu işlemlere ayırma zenginleştirme işlemleri denir.

2.1.2. Ağır metallerin etikleri

Yüksek konsantrasyonlardaki bazı ağır metaller, bitkileri ve bitkilerle beslenen insan ve hayvanları olumsuz yönde etkileyebilmektedirler. Krom, nikel ve kurşun toprakta 10 - 100 µg/kg arasında, kadmiyum ise 1 µg/kg'ın altında bulunuyorsa bu miktarlar normal seviyeler olarak kabul edilmektedir. Kadmiyum ve kurşun çevresel kirleticiler olarak insanlar ve hayvanlarda ciddi sağlık sorunlarına neden olmaktadır; Cr(III) gerekli bir mikro elementtir yüksek konsantrasyonlarda memeliler ve diğer hayvanlar için toksik bir element iken, nikel ise aynı grup canlılar için olası kanserojen bir elementtir.

Bununla beraber nikel, yüksek bitkiler için gerekli besin elementi olarak kabul edilmiştir. Toprakta ekstrakte edilebilir ağır metal konsantrasyonları: Cd için 1 µg/kg, kobalt için 10 µg/kg, bakır için 0,1 µg/kg, selenyum için 10 µg/kg, vanadyum için 0,5-1 µg/kg, Nikel için 100 µg/kg in üzerinde olduğu durumlarda toksik etkiler ortaya çıkabilmektedir. Ağır metaller içinde en şiddetli zehir etkisi olanların Cd, Pb ve Hg olduğu ifade edilmektedir [17].

Doğada metal kirliliği çeşitli kaynaklardan gelmektedir. Birçok metal, hava, su ve besinler ile organizmaya alınmaktadır. Organizmaya alınan metaller, metabolizma üzerindeki toksik etkilerini değişik yollarla yapabilmektedir. Örneğin, proteinlerle etkileşerek onların enzimatik ve yapısal fonksiyonlarını değiştirip inhibe edebilir, temel elementlerin yerini alarak toksik etki gösterebilir. Bazı toksik metaller ise, proteinlerle birleşerek hücre içi birikimlere neden olabilirler. Ağır metaller genellikle okyanus yüzeyindeki sularda düşük yoğunluklarda bulunur ve oradan buharlaşarak atmosfere taşınırlar. Yüksek seviyeli sahil kıyılarında ve nehir sularının yüzeyinde meydana gelirler. Şehir merkezlerine yakın alanlarda kirlilik, kanalizasyon çıkışlarıyla birleşir fakat seviyeleri endüstri alanlarının yakınlarında yükselir [18].

Ekosistemde canlılar arasındaki dengeyi bozan kirleticileri organik ve inorganik kirleticiler olarak sınıflandırmak mümkündür. Bu kirleticiler metaller, pestisitler, Poli klorlu bifeniller (PCB), Poli aromatik hidrokarbonlar (PAH)'dır. Bunlar organizmalara toksik etki yapmaktadırlar [19].

Toksik bir madde “herhangi bir organizmada veya onun yavrularında ölüme, hastalığa, anormal davranışlara, fiziksel veya üreme bozukluklarına ya da fiziksel deformasyonlara neden olabilen, besin zinciri veya diğer maddelerle birleşmesi durumundaki konsantrasyonlarda zehirlenme etkisi oluşturabilen madde” olarak tanımlanmaktadır.

Kirleticilerden organik kontaminantların aksine, inorganik kökenli olan ağır metaller konsantrasyon ya da toksisitelerini azaltan parçalanma işlemine uğramazlar. Bazı ağır metaller organizmalarda önemli seviyelerde birikir.

Metaller ve bileşikleri yer kabuğunda değişik konsantrasyonlarda bulunurlar. Düşük derişimli bazı metaller çevre kirlenmesi bakımından yüksek derişimli başka metallere oranla çok daha tehlikelidirler. Doğal minerallerdeki metaller normal olarak çözünmeyen bileşikler halinde olup canlı organizmalara zararsızdırlar. Buna karşılık bunların çözünen türevleri, genellikle organizmalar için toksiktir. Ağır metaller çevrede özellikle biyosferde geniş bir yayılım gösterirler. Bu nedenle zararlı formdaki derişimleri önemli boyutlara ulaşır [20].

Kirleticiler, genelde iki ana kaynaktan sulak ortamlara ulaşır. Noktasal deşarjlar; atık su deşarjları, endüstriyel kaynaklardan gelen atık sular; noktasal olmayan deşarjlar; tehlikeli atık bertaraf bölgeleri ve kaza sonucu sızmalardan salınan maddeler şeklinde olmaktadır. Noktasal kaynakların tiplerini karakterize etmek genelde kolaydır. Aksine noktasal olmayan deşarjlar, zirai alanlardan gelen pestisitler, kontamine olmuş topraklar ve akuatik sedimentlerden, atmosferik birikimlerden ve yerleşim alanlarından gelen sızıntı kaçaklarını karakterize etmek daha zordur. Çoğu durumda noktasal olmayan kaynaklardan gelen deşarjlar kompleks karışımlardır. Toksik maddelerin miktarını, deşarjların miktarını ve zamanlamasını tahmin etmek zordur.

Noktasal olan ve olmayan kaynaklardan gelen atık sularda bazen eser miktarlarda bazen de yüksek miktarlarda metaller bulunabilir. Bu metaller deşarjın yapıldığı noktadan itibaren akarsu, nehir, göl ve haliçlerden deniz ve okyanuslara kadar ulaşabilirler. Deniz ortamına giren kirletici maddelerin çoğu karasal kaynaklıdır. Bunlar karadan denizlere; akarsular, yağmur ve kıyı bölgelerdeki atıklar ile taşınır. Doğal şartlar altında denizlerdeki ağır metallerin en önemli kaynağı olarak nehirler görülmektedir. Genel olarak nehirlerle taşınan ağır metallerin büyük bir kısmı çözülmüş halde taşınmaktadır. Partiküler formdaki ağır metal formlarının ise sadece bir kısmı denizlere ulaşmaktadır. Çünkü akarsuyun hızı azaldıkça çökelme meydana gelir ve körfezlerde tuzlu su ile tatlı su karıştığı zaman çeşitli fiziko-kimyasal derişimler olur. Metal kirlenmesi iletim, rüzgâr ve sularla bir yerden başka bir yere sürüklenir. Bu şekilde bir dağılmanın yararlı yönleri yanında konsantrasyon azalımı gibi zararlı yönleri de vardır. Böylelikle hiç kirlenmemiş bölgelere kirlilik taşınabilir. Sonuçta metal kirliliğinin çoğu sularda birikir. Sulardaki birikim, çözünme şeklinde olabileceği gibi, çözünmeden suların dibinde

çökme şeklinde de olabilir. Bu şekilde bir kirlenme endüstriyel ve zirai atıklardan meydana geldiği gibi herhangi bir yolla atmosfere verilen metal türü maddelerden de meydana gelebilir. Atmosfere verilen metal türü maddeler sonunda yeryüzüne dönerler ve akarsular yolu ile su yataklarına sürüklenirler. Metal kirlenmesi, organik kirlenmeler gibi kimyasal ve biyolojik yollarla parçalanmaz. Bir metal bileşiği başka bir metal bileşiğine dönüşür. Dönüşme ne olursa olsun metal iyonu kaybolmaz [21].

2.2. Zenginleştirilen Elementlerin Genel Özellikleri

Zenginleştirilen elementler hakkında; doğada bulunuşu, kullanım alanları, su ve bazı örneklerdeki derişimi hakkında genel bilgi verilmiştir.

2.2. 1. Kobalt (Co)

Kobalt stratejik ve endüstriyel uygulamalarda ve askeri alanda önemli kullanım alanlarına sahiptir. Kobalt, en çok süper alaşım olarak jet motor türbinlerinde kullanılırken, malzemelere manyetiklik özelliği kazandırma, korozyondan korunma ve mekanik özelliklerin iyileştirilmesi amacıyla alaşımlarda, yüksek hız çeliklerinde, takım çeliklerinde, elmas takımlarında ve kesici uçlarda alaşım elementi olarak da kullanılır. Bileşikleri ise petrol ve seramik endüstrisinde katalizör ve boyalarda pigment, mürekkep ve verniklerde kurutma maddesi olarak kullanılır. Ayrıca pil elektrotlarında, her tip manyetik malzemelerde ve kayıt cihazlarında kullanılmaktadır.

Havada bulunan toz halindeki kobaltın solunması ve kobalt tuzlarının deri ile teması neticesinde kobalt zehirlenmesi gerçekleşir. Toz halinde alınan element kobalt akciğerlerde çözünerek kana ve idrara karışır. Suda çözünür kobalt bileşikleri ağız yolu ile alındığında %75'i tekrar atılırken geriye kalan kobalt kan, karaciğer, akciğer, böbrek, testisler ve bağırsaklarda toplanmaktadır.

Kobalt ve kobalt bileşiklerinin insanlar üzerinde kansere neden olduğuna dair henüz kesin bulgular olmamasına rağmen, kobalt bileşikleri risk teşkil etmektedirler ve kanserojen madde gibi muamele görürler.

Günlük besin ihtiyacımızda çok küçük bir yer teşkil eden kobalt, kırmızı kan hücrelerini üretiminin ve sinir düzenlenmesinde kullanılan B12 vitaminin bileşenidir. Kobaltın vücuttaki normal miktarı 80-300 mg'dır. Kırmızı kan hücrelerinde, karaciğerde, dalakta, böbrekte, pankreasta depolanır. Et, karaciğer, böbrek, midye, istiridye, süt, balık ve deniz yosunları ve daha düşük miktarda olmakla beraber kara sebzeleri (bakla tohumu, ıspanak, lahana, salata, pancar, incir) de kobalt içerir. Diğer taraftan sigara dumanında da kobalt bulunmaktadır. Kobalt vücutta yapı taşı olarak bulunur ve anemiyi engeller. Ayrıca B12 vitaminin yorgunluk, sindirim kolaylığı ve kas problemlerinin giderilmesine faydası vardır. Yetersiz kobalt alınımında pernisyöz (zararlı) anemi ve sinirlerde bozukluk gibi pek çok problemler ve semptomlar ortaya çıkar ancak yeterli B12 vitamini alınarak etkiler ortadan kaldırılabılır. Vejetaryen insanların yeterli B12 ve kobalt alıp almadıklarına ve yaşanan bölgede toprak seviyesindeki kobalt miktarına bağlı olarak bitkilerde bulunan kobalt miktarının azaldığına özellikle dikkat edilmelidir [22].

2.2. 2. Krom

Vücutta insülin hareketini sağlayarak karbonhidrat, su ve protein metabolizmasını etkileyen krom, doğada her yerde bulunan bir metal olup havada $> 0.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ve kirlenmemiş suda ortalama $1 \mu\text{g}/\text{L}$ bulunur. Pek çok toprakta az miktarda krom (2 -60 mg/kg) bulunurken, kirlenmemiş bazı topraklarda bu değer $4 \text{ g}/\text{kg}$ 'a kadar çıkmaktadır [23].

Krom içeren minerallerin endüstriyel oksidasyonu ve fosil yakıtların, ağaç ve kâğıt ürünlerin yanması neticesinde doğada (hexavalent) altı değerlikli krom oluşmaktadır. Okside krom havada ve saf suda nispeten kararlı iken ekosistemdeki organik yapılarda, toprakta ve suda üç değerliğe geri indirgenir. Kromun başta insan bünyesinde olmak üzere canlı organizmalardaki davranışı oksidasyon kademesine ve oksidasyon kademesindeki kimyasal özelliklerine ve bulunduğu ortamdaki fiziksel yapısına bağlıdır. Günde ortalama krom alımı (tüm değerliklerde) ortalama $30-200 \mu\text{g}$ 'dır bu oranda alınan kromun toksikolojik bir etkisi yoktur. Yetişkin bir insanda günlük krom

ihtiyacını karşılar. Adsorbe olan krom genelde üre bileşiği olarak atılır. Çözeltideki krom deri tarafından hemen adsorbe edilir. Kırmızı kan hücreleri vasıtasıyla böbreklere gider ve dışarı atılır [23].

Günlük alınan krom miktarı tüketilen besin maddeleri ile ilintilidir. İnsan vücudundaki krom eksikliği, şeker hastalığı olarak kendini gösterir [24]. Krom eksikliği, kurşunun toksikliğini artırırken, biyolojik sistemlerdeki aşırı Cr^{6+} farklı tipte kanser oluşumuna sebep olmaktadır. Kromat bilinen en genel alerjen maddedir.

Krom, metal alaşımlandırmada, boyalar, çimento, kağıt, kauçuk ve diğer malzemeler için pigment olarak kullanılmaktadır. Düşük seviyelerde kroma maruz kalındığında, deride iritasyon ve ülser meydana gelir. Uzun süreli maruz kalındığında böbreklerde ve karaciğerde hasara yol açabildiği gibi kan dolaşım sistemini ve sinir dokularını tahrip edebilir. Krom daha çok sulu ortamlarda birikerek çoğalır.

2.2. 3. Nikel (Ni)

Parlak gümüşümsü sert bir ferromanyetik olan nikel metali nitrik asitte çözünebilirken seyreltik hidroklorik ve sülfürik asitte az oranda çözünebilmekte, sıcak-soğuk su veya amonyakta ise hiç çözünürlük göstermemektedir. Nikelin büyük bir çoğunluğu (% 80), korozyon ve ısı direncinin yüksek, sertliğinin ve dayanımının iyi olması sebebiyle alaşım üretiminde kullanılmaktadır. Nikelin ana kullanım alanı paslanmaz çelik, bakır-nikel alaşımları ve diğer korozyona dayanıklı alaşım üretimleridir. Saf nikel kimyasal katalizör olarak elektrolitik kaplamada ve alkali pillerde, pigmentler, madeni para, kaynak ürünleri, mıknatıslar, elektrotlarda, elektrik fişlerinde, makine parçaları ve tıbbi protezlerde kullanılmaktadır [25]. Nikelin bilinen biyolojik fonksiyonu olmamakla birlikte orta seviyede zehirleyici özelliği vardır. Nikelin organik formu, inorganik formundan daha zehirleyicidir. Deriyi tahriş etmesinin yanında kalp-damar sistemine çok zararlı ve kanserojen bir metaldir.

Nikel hem altın için mükemmel bir beyazlaştırıcı olduğu gibi hem de bakır ile birlikte kullanıldığında mekanik özellikleri, işlenebilirliği ve döküm özellikleri iyi olan bir alaşım eldesini mümkün kılan önemli bir alaşım elementidir.

2. 3. Ayırma ve Zenginleştirme Yöntemleri

Eser elementlerin analizinin yapılabilmesi için eser element analizinde, analit elementi girişim yapan matriksten ayrılmak zorundadır. Analitik tekniğin iyi olmayan hassasiyetinden dolayı, numunedeki analit konsantrasyonunu arttırmak için uygun zenginleştirme metotları kullanılır. Bu işlemler eser elementlerin tayini için çok önemlidir. Zenginleştirme işlemi, analiz edilecek olan eser elementin örnekte bulunan miktarının daha yüksek konsantrasyonlara getirilmesidir. Bununla birlikte, her numune zenginleştirme basamağı potansiyel bir hata kaynağıdır. Ayırma işlemi ise genel olarak karışımındaki bileşenlerin iki faz arasındaki dağılma katsayılarının farklılığından yararlanılarak gerçekleştirilir. Ayrıca ayırma ve zenginleştirme basamakları zaman harcayan özelliktedirler. Bundan dolayı, eğer mümkünse bu basamaklardan kaçınılmalıdır. Buna karşın sonuçların iyi bir duyarlılık ve doğrulukta tayini içinse, oluşabilecek kayıplar ve kirlilikler analiz basamağına kadar asgari düzeyde tutulmalıdır.

Atomik spektroskopi metotları için bazı elementlerin özellikli olmayan ayırımları genellikle yeterlidir. Ayırma ve zenginleştirme metotlarını genel olarak sınıflandırsak; birlikte çöktürme, çözücü ekstraksiyonu, buharlaştırma ve iyon değiştirme ile zenginleştirir [26].

Ayırma yöntemleri genel olarak bir karışımındaki bileşenlerin iki faz arasında dağılma katsayısının farklı olmasından yararlanılarak yapıldığını temel alırsak, ayırma üç temel yöntemeye dayanır. Bu yöntemler aşadıdaki gibi sıralanır:

- Ana bileşen örnekten uzaklaştırılırken, eser bileşenler çözeltide kalır.
- Eser bileşenler katı ya da çözülmüş örnekten uzaklaştırılırken ana bileşenler çözeltide kalır.
- Eser bileşenler, diğer eser bileşenlerden ayrılır.

Birinci madde uygulanmaz. Çünkü ana madde ayrıldığında ana maddeyle beraber eser bileşenler de gelebilir. Eser element analizlerinde daha çok 2 ve 3. maddeler uygulanır. Analizde tam bir ayırma istenildiğinde maskeleye kullanılır. Maskeleye, bileşen ortadan kaldırılmadan uygun bir reaktif ilavesiyle girişim etkisi olan maddenin etkisinin yok edilmesidir. Maskeleye kullanılan bileşen, çözeltideki bir bileşen ile seçici olarak tepkimeye giren ve böylece bu bileşenin analizi bozmasını önleyen kompleksleştirici bir maddedir.

2.3.1. Sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi ile zenginleştirme

Sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi basit ve hızlı olduğundan dolayı oldukça önemlidir. Sıvı-sıvı ekstraksiyon yönteminde, genellikle ayırma hunisi kullanıldığı için büyük hacimlerle çalışmak zordur. Bu yöntemde su fazı ve organik faz vardır. Sulu fazdaki eser bileşenler organik faza iyonik kompleks ve şelatları şeklinde geçer. Metal iyonunun türü, pH, sulu fazdaki tepkimeler, ligant, çözücü türü ve sıcaklık bu yöntemdeki dağılıma katsayısına etki eden faktörlerdir. Seçimlilik bu kriterlere dayanılarak elde edilir.

2.3.2. Elektrolitik zenginleştirme

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

2.3.3. İyon değiştirme yöntemi ile zenginleştirme

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

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

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

İyon değiştirme ile yapılan zenginleştirmede, katı maddenin yapısında bulunan iyonlar, çözelti içindeki aynı cinsten yüklü başka iyonlarla yer değiştirirler. İyon değiştirme tekniği ile büyük hacimli çözeltiler daha küçük hacimden geçirilirken, eser elementlerin seçimli olarak tutunmaları sağlanır. Tutulan eser elementler küçük hacimli bir elüent ile ikinci bir faza alınarak zenginleştirilir. İyon değiştiriciler değişebilir anyon ve katyonları taşıyan çözüner olmayan katı maddelerdir. Bu amaçla kullanılan katı maddeler, çözelti ortamında çözünmeyen büyük molekülü doğal ve yapay maddelerdir. Bunlar organik ve inorganik olarak ikiye ayrılırlar. Belli başlı iki iyon değiştirici grup vardır. Bunlar fonksiyonel grupları sulu ortamların katyonlarıyla reaksiyona girebilen katyon değiştiriciler ve fonksiyonel grupları sulu ortamların anyonlarıyla reaksiyona girebilen anyon değiştiricilerdir. Bazı maddeler de hem anyon hem katyon değişimi yeteneğine sahip olup amfoterik iyon değiştiriciler adını alır. İyon değiştirici seğiminde fonksiyonel grupların seğimliliği, değiştirme kapasitesi, değiştirme hızı, iyon değiştiricinin rejenerasyonu ve uygun elüent kullanılması dikkat edilecek hususlardır.

2.3.4. Uçuculaştırma yöntemi ile zenginleştirme

Tayin edilecek element uçucu olmadığı takdirde buharlaştırılması mümkündür. Genel olarak tayin edilmek istenen elementler veya matriksler seçimli olarak buharlaştırılır. Buharlaştırma ile ayırmada matriks ile eser element arasında uçuculuk farkının büyük olması gerekir. Eser element analizinde örnek buharlaştırılır, matriks elementlerde hava

kabarcıkları yardımıyla, ısıtmayla ve kimyasal reaksiyonlarla çözeltide kalır. Buharlaşan bileşikler de analiz için uygun bir çözeltide absorplanır.

Yöntem kolay uçucu ve kolaylıkla uçucu bileşiklerine dönüştürülebilen bazı elementler için son derece uygundur. Ancak inorganik eser analizde, metallerin uçurma ile zenginleştirilmeleri yaygın değildir. AAS, AES ve AFS (Atomik Floresans Spektroskopisi)'de kullanılan hidrürüne çevirme (As, Se, Sb, Te için), dc ark AES'de kullanılan taşıyıcı destilasyonu uçuculuk farkından yararlanılarak yapılan ayırma yöntemlerindedir. Ayrıca seçimli buharlaştırma ile elektrotermal atomlaşmalı atomik absorpsiyon spektrometresi (ETA-AAS)'de matriks ayrılması yaygındır.

2.3.5. Birlikte çöktürme yöntemi ile zenginleştirme

Bir sulu çözeltide 1 mg/L'den daha düşük derişimlerde bulunan eser elementlerin geleneksel çöktürme teknikleriyle kantitatif olarak çöktürülmesi genellikle zor veya mümkün değildir. Çöktürücü reaktif ile eser elementlerin oluşturacağı bileşiğin çözünürlük çarpımı çok küçük olsa dahi, çözeltide kolloidal çökeleklerin oluşumu veya küçük miktarda çökelekler, geleneksel çöktürme tekniklerinin kullanılmasını engeller. Bu nedenle genellikle eser elementlerin zenginleştirilmesinde birlikte çöktürme yöntemi kullanılmaktadır. Birlikte çöktürme yöntemi, çözeltideki eser elementlerin toplayıcı veya taşıyıcı çökelek olarak adlandırılan miligram düzeyindeki inorganik veya organik karakterli bir çökelek üzerinde, meydana gelen çeşitli mekanizmalar sonucu toplanmasıdır. Bu yöntemin temelini oluşturan birlikte çöktürme olayı, çökeleğin çok saf elde edilmesi istendiği zaman istenmeyen bir durumken, eser elementlerin zenginleştirilmesinde tercih edilen bir olaydır.

2.3.6. Flotasyon yöntemi ile zenginleştirme

Flotasyon yöntemi, sulu çözeltide bulunan iyonları, gaz kabarcıkları yardımı ile çözelti yüzeyine çıkartma olayıdır. Hidrofobik maddeler gaz kabarcıklarına tutunarak yüzeye çıkarlar. Hidrofilik maddeler ise yüzey aktif maddelere tutturulur. Daha sonra flotasyon

tekniki uygulanır. Bu yöntem daha çok maden minerallerinin deriştirilmesinde sanayide kullanılmaktadır.

2.3.7. Adsorpsiyon (katı-faz özütleme) yöntemi ile zenginleştirme

Katı faz ekstraksiyonu sıvı-sıvı ekstraksiyonuna çok benzemektedir. Her ikisinde de istenilen madde iki faz arasında ayrılmaktadır. Fakat sıvı-sıvı ekstraksiyonunda birbirine karışmayan iki sıvı faz vardır. Katı faz ekstraksiyonunda ise çözünen madde sıvı ve katı faz arasından ayrılmaktadır.

Katı faz ekstraksiyonu çözücü kullanımını, atık maliyetini ve numune hazırlamak için ekstraksiyon zamanını azaltır. Özellikle su numunelerinde bulunan metal iyonlarının ayrılması ve hassas bir şekilde tayin edilmesi için başarılı bir şekilde kullanılmaktadır [27].

Katı faz özütleme metodunda, analit iyonları kolondan geçerken adsorban ile arasında kimyasal bir etkileşim meydana gelir. Bu etkileşim iki şekilde gerçekleşebilir. Birinci yöntemde analiz edilecek bileşen adsorbana bağlanarak kolon içinde tutunurken, çözelti ve istenmeyen bileşenler bu madde ile herhangi bir etkileşime girmezler. Daha sonra istenmeyen bileşenler uygun yıkama çözeltisi ile yıkanarak uzaklaştırılırken, adsorbana tutunmuş analit iyonları uygun bir çözelti yardımıyla çözümlenerek alınır. Daha sonra analit iyonları uygun bir elüent ile elüe edilerek, hem daha uygun bir ortam içine alınmış, hem de deriştirilmiş olurlar.

Daha az tercih edilen ikinci yöntemde ise, istenmeyen madde adsorban ile etkileşerek kolonda tutunur. Özellikle atık yağlar gibi matriksten ayrılması zor olan maddelerin analizinde kullanılan bu yöntemde, matrikstekki istenmeyen bileşenler adsorban tarafından tutulur. Asıl aranan madde ise adsorban ile herhangi bir etkileşime girmez. Daha sonra uygun bir çözelti yardımıyla çözümlenerek toplanır. Burada adsorban filtre görevi görür. Sıvı örneğin kolondan geçirilmesi, yer çekimi ya da vakum vasıtasıyla gerçekleştirilir.

2.3.7.1. Batch tekniği

Bu yöntemde, içinde analit bulunan çözeltiye adsorban ilave edilerek mekanik veya ultrasonik olarak karıştırma yapılır. Tutunma olayı gerçekleştirildikten sonra katı faz, dekantasyon ya da filtrasyon ile ayrılır. Katı madde üzerinde tutunmuş eser elementler uygun bir çözücü ile desorbe edilerek tayinleri yapılabilirdiği gibi, süzme işleminden sonra katıda tutunan analitlerin analizleri X-Işınları difraksiyonu, nötron aktivasyonu ve AES gibi yöntemlerle doğrudan yapılabilir. Batch yöntemi dağılma katsayıları büyük olan eser elementlerin zenginleştirilmesinde daha yaygın olarak kullanılır. Bu tekniğin kullanılabilmesi için analitin dağılma katsayısı çok büyük olmalıdır.

2.3.7.2 Kolon tekniği

Katı faz özütleme yöntemlerinden kolon yöntemi, batch yöntemine göre daha yaygın olarak kullanılır. Bu yöntemde genellikle 0,5-1 cm çapında, 10-15 cm uzunluğunda musluklu mini kolonlar kullanılır. Eser metalleri tutacak olan adsorban kromatografik kolona doldurulur. rnek zeltisi kolondan geçirilmeden önce, yaklaşık 5-10 mL örnek çözücüsüne benzer bir çözeltinin geçirilmesi ile şartlandırılır. Hazırlanan kolondan örnek çözeltisi geçirilerek eser elementlerin kolonda tutunması sağlanır. Eser elementi içeren çözeltinin pH ayarlaması, uygun şelatlaştırıcının eklemesi vb. gibi gerekli ön işlemleri yapıldıktan sonra kolondan geçirilerek metal iyonlarının adsorban üzerinde tutunmaları sağlanır. Adsorban üzerinde tutunmuş istenmeyen maddeler varsa uygun bir çözelti kullanılarak yıkanarak uzaklaştırılır. Burada kullanılan çözücü, analiti etkilemeden sadece matriks bileşenlerini önemli ölçüde desorbe edebilmelidir. Katı faz üzerinde adsorblanan analit iyonları, kolondan elüent denilen uygun bir çözücünün geçirilmesi ile daha küçük bir hacme alındıktan sonra analit derişimi tayin edilir.

2.3.8. Yapısal zelliklerin adsorpsiyona etkisi

Katı faz özütleme metodunda maddelerin birbirinden ayrılması, analizi yapılacak maddenin molekülleri ile adsorban maddedeki etkin grupların etkileşimine dayanmaktadır. Analizi yapılacak madde molekülleri adsorban maddedeki etkin gruba

iyonik, hidrojen, dipol-dipol, dipol-indüklenmiş dipol ve indüklenmiş dipole indüklenmiş dipol (van der waals) bağları ile bağlanır. Bu şekilde analit iyonları, matrikste girişim yapabilecek istenmeyen bileşenlerinden ayrılmış olur. Katı faz özütleme mekanizmaları, analiz edilecek madde çözücü ve adsorbanın özelliklerine göre gerçekleşir. Belli başlı ayırma mekanizmaları olarak normal faz, ters faz, iyon değişimi (anyonik ve katyonik) ve moleküler eleme (size exclusion) sayılabilir. Normal faz; polar bileşiklerin polar olmayan matrikslerden ayrılması işlemidir. Bu yöntemde en fazla kullanılan tutucu madde silikadır. Florosil ya da silika ve aluminaya çeşitli grupların eklenmesiyle elde edilen siyano, diol ve amino grubu adsorbanlar örnek olarak verilebilir. Ters faz, tutucu maddenin polaritesinin örnek çözeltilsinin polaritesinden daha düşük olduğu durumlarda gerçekleşen mekanizmadır.

2.3.8.1. Adsorbsiyon mekanizması

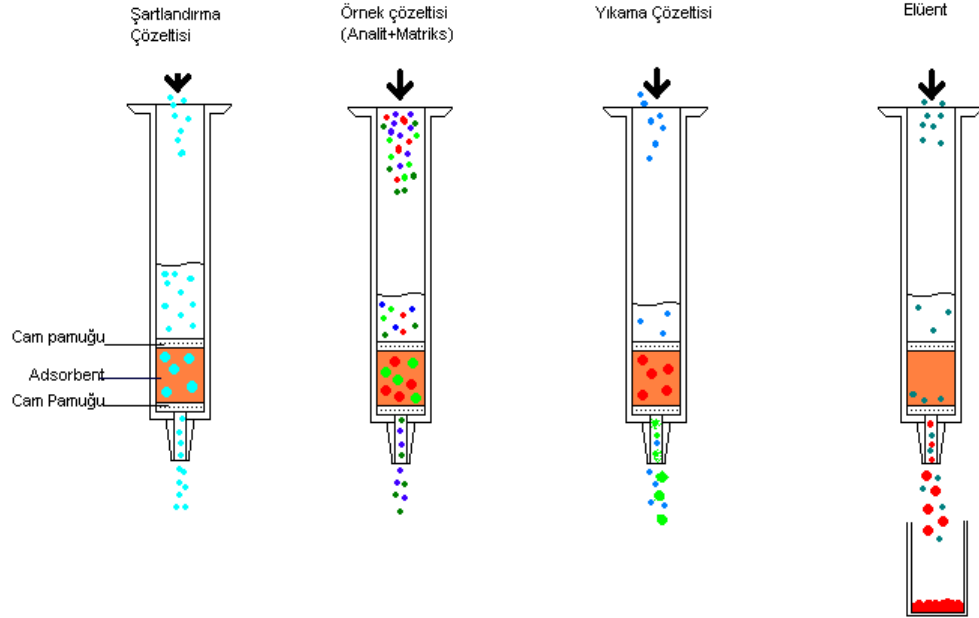
Katı faz özütleme yöntemi dört basamaktan oluşmaktadır. İlk basamakta; katı faz uygun bir çözücü (şartlandırıcı) ile yıkanarak hem istenmeyen safsızlıklar giderilmiş olur, hem de dolgu maddesinin ıslanması sağlanır. Şartlandırma işlemi, kolondan uygun madde geçirilerek tutucu maddenin aktif hale getirilmesi ve matriksteki maddeler ile tekrarlanabilir etkileşim için gerekli ortamın sağlanabilmesi amacıyla yapılmaktadır.

Polar olmayan tutucu maddeler, kolon hacminin 2-3 katı miktarda suyla karışabilen metanol, tetrahidrofur, izopropanol gibi polar çözücüler ile polar tutucu maddeler ise polar olmayan çözücülerle şartlandırılmaktadır. Bu amaçla genel olarak metil alkol, su ve ardından örnekle aynı pH'daki çözeltiler kullanılır. İkinci basamakta; örnek yer çekimi kuvvetiyle ya da bir peristaltik pompa vasıtasıyla kolondan geçirilir. Örneğin kolondan akış hızı, analitlerin etkin olarak tutunmasını sağlayacak kadar yavaş, zaman kaybına neden olmayacak kadar hızlı olmalıdır.

Üçüncü basamakta, zayıf bir elüsyon özelliği gösteren uygun bir çözücü ile katı faz yıkanarak, katı faz üzerinde olabilecek matriks iyonları uzaklaştırılmış olur. Dördüncü basamakta; kolondan uygun bir elüent geçirilerek, analit iyonları elüe edilir. Elüsyon için genelde şelatın yapısını bozan ve eser elementi serbest hale getiren bir asit kullanılmaktadır. Eğer ortamda, katı faz üzerinde analitten daha kuvvetli bir şekilde

tutunabilecek türler varsa, elüsyondan önce uygun bir çözücü ile yıkanarak uzaklaştırılır.

Katı faz özütleme tekniğinde katı faz olarak adsorblama kapasitesi yüksek adsorbanlar kullanılır. Adsorblama kapasitesi yüksek olan doğal katılara örnek olarak kömür, kil, zeolit ve çeşitli metal filizleri verilebilir. Kullanılan adsorbanlar, inorganik (inorganik oksitler) ve organik (doğal ve sentetik polimerler) bazlı olmak üzere iki sınıfa ayrılabilirler.



Şekil 2.1. Katı faz özütleme yönteminde dört adım

En önemli inorganik bazlı adsorbanlar; silika jel, gözenekli cam, C18 bağlı silika jel, floorisil, alumina ve diğer inorganik oksitlerdir. İnorganik bazlı adsorbanlarda istenmeyen yapılar oluşabildiği için organik bazlı adsorbanlar daha yaygın olarak kullanılır. Organik bazlı olanlar polimerik olan ve polimerik olmayan adsorbanlar olmak üzere ikiye ayrılırlar. Polimerik olanlar eser element çalışmalarında daha çok kullanılmaktadır. Polimerik olmayan organik bazlı adsorbanlara örnek olarak, aktif karbon, naftalin ve grafit örnek olarak verilebilir. Polimerik olan organik esaslı adsorbanlara ise, polistiren divinilbenzen, polimetilmetakrilat divinilbenzenvinilprolidin

ve poliüretan polimerleri örnek olarak verilebilir. Bunlar eser analizlerde yaygın olarak kullanılan polimerik adsorbanlardandır.

2.3.8.2. Adsorpsiyonla yapılan zenginleştirme çalışmaları

Son yıllarda çeşitli doğal ve sentetik adsorbanlar eser elementlerin zenginleştirmesinde kullanılmaktadır. Bunlardan aktif karbon, kil mineralleri (sepiolit, pomza taşı, zeolitler gibi), silika jel ve Amberlit serisi, ambersorb gibi polimerler katı faz özütleme tekniğinde kullanılanlar arasındadır. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda verilmiştir.

Feist ve Mikula aktif karbonu kullanarak Cd, Co, Cu, Ni, Pb, ve Zn elementlerinin zenginleştirmesinde kullanmışlardır. Bu çalışmada örnek çözeltinin hidronyum iyonu derişimi, katı faz miktarı, çözelti hacmi, çalkalama süresi ve adsorben kapasitesi gibi parametreler incelenmiştir. Geliştirilen yöntem meyve örneklerine uygulanmıştır. Analizler ICP AAS ile yapılmıştır. Geliştirilen yöntemin gözlenebilme sınırı sırasıyla Cd, Co, Cu, Ni, Pb ve Zn için 0,17; 0,19; 1,60; 2,60; 0,92 ve 1,50 ng mL⁻¹ bulunmuştur [28].

Dobrowolski ve Otto, Dimetil gloksimi aktif karbona emdirilerek Ni ve Co elementinin zenginleştirmesinde adsorban olarak kullanmışlardır. Çalışılan elementlerin analizlerinde grafit fırın atomik absorpsiyon spektroskopisi kullanmışlardır. Çalışmada örnek çözelti ortamının hidronyum iyonu derişimi, kinetiği gibi parametreler çalışılmıştır. Geliştirilen yöntemin gözlenebilme sınırı nikel ve kobalt için 20,0 ve 1,0 µg/kg tayin sınırı ise 60,0 ve 4,0 µg/kg bulunmuştur. Geliştirilen yöntem, sertifikalı referans maddelere (spinach leaves: NIST 1570a ve NCS ZC73013, karışık Polish herbs INCT-MPH-2, tea leaves INCT-TL-1) uygulanmıştır. %7 bağıl hata ile iyi bir sonuç elde etmişlerdir [29].

Ghaedi ve arkadaşları sodyum dodesil sülfatı (SDS) aktiflendirilmiş alümina üzerine emdirilerek Zn, Ni, Fe ve Pb elementlerinin zenginleştirmesinde katı faz olarak kullanmışlardır. Çalışmada çözeltinin pH'sı, adsorben miktarı, ligand miktarı eluent türü, derişimi ve miktarı, çözelti hacmi ve çalkalama süresi gibi çeşitli parametreler çalışılmıştır. Eluent olarak 8 mL 4 mol L⁻¹ HNO₃ uygun görülmüştür. Çalışılan metal

iyonların geri kazanımı ise %95'in üzerinde bulunmuştur. Gözlenebilme sınırları ise sırasıyla Zn, Ni, Fe ve Pb için 1,6; 2,6; 2,8 ve 2,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ olarak bulunmuştur [30].

Literatürlerde verilen çalışmaların çoğunda eser elementler, ya komplekslerine dönüştürüldükten sonra katı faz yüzeyinde, ya da şelatlaştırıcı reaktif tutturulmuş katı fazda zenginleştirilmişlerdir.

Kompleksleştirici reaktifler kullanılarak yapılan zenginleştirme çalışmalarından bazıları şunlardır.

Pourjavid ve arkadaşları, Co ve Ni metal iyonlarını N-(5-methyl-2-hydroxyacetophenone)-N'-(2-hydroxyacetophenone) ethylene diamine (MHE) komplekslerine dönüştürerek sentezlenmiş grafin oksit üzerinde zenginleştirme işlemi yapmışlardır. Çözelti ortamının pH'sı, adsorban miktarı, çözelti hacmi gibi parametreler incelenmiştir. Analizlerde alevli AAS cihazı kullanılmıştır. Eluent olarak 3 M HNO_3 çözelti metallerin geri alınmasında yeterli gelmiştir. Zenginleştirme kat sayısı 250 ve gözlenebilme sınırı ise Co ve Ni için 0.25 ve 0.18 ng mL^{-1} olarak bulunmuştur [31].

Zawisza ve arkadaşları, çok duvarlı karbon nanotüpü adsorban olarak kullanarak Cr(III), Mn(II), Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) ve Pb(II) elementlerinin zenginleştirilmesinde kullanmışlardır. Çalışmada adsorban miktarı, temas süresi ve çözeltinin pH'sı gibi parametreler incelenmiştir. Elementlerin en düşük tayin sınırları sırasıyla 0,6; 0,6; 1,0; 0,7; 0,6; 0,5; 0,9 ve 1,9 ng mL^{-1} bulunmuştur. Çalışılan elementlerin analizi X ışınları floresans spektroskopisi ile yapılmıştır. Geliştirilen yöntem doğal sulara uygulanmıştır [32].

Karatepe ve arkadaşları, zincon (2-[2-[alpha(2-hydroxy-5-sulfophenylazo) benzylidene] hidrazino] benzoik asit sodyum tuzunu kullanarak Cu(II), Ni(II), ve Fe(III) iyonlarını komplekslerine dönüştürerek Diaion HP-20 polimeri üzerinde zenginleştirme işlemi yapmışlardır. Çalışmada çözeltinin pH'sı, katı faz miktarı, ligant miktarı, çözelti akış hızı, eluent türü derişimi ve hacmi, çözelti hacmi gibi parametreler üzerinde çalışmışlardır. Girişim yapabilecek iyonların, gözlenebilme sınırı ve tayin sınırı gibi

parametreler de çalışılmıştır. pH 5'te elementlerin geri kazanımı %95'in üzerinde bulunmuştur. Elementlerin gözlenebilme sınırları ise 0,72–1,41 mg/L arasında değiştiği görülmüştür. Geliştirilen yöntemin doğruluğunu ise sertifikalı referans madde (SRM1515 Apple Leaves), zencefil, karabiber, tarçın ve dereotu gibi gerçek örneklerle uygulanmıştır. Analizlerde alevli AAS kullanılmıştır [33].

Baytak ve Türker Ni ve Pb iyonlarını EDTA ile komplekslerine dönüştürerek Ambersorp 572 polimeri üzerinde zenginleştirme işlemi yapmışlardır. Çalışmada kolon tekniği kullanmışlardır. Bu çalışmada çözeltinin pH'sı, katı faz miktarı, çözelti akış hızı ve hacmi, eluentin türü derişimi ve hacmi gibi parametreler incelenmiştir. Ayrıca çalışılan metal iyonların üzerinde girişim yapabilecek yabancı iyonların da etkisine de bakılmıştır. Geliştirilen yöntemin gözlenebilme sınırı Pb ve Ni için 3,65 ve 1,42 ng mL⁻¹ olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntem çeşitli su örneklerine ve sebze örneklerine uygulanmıştır. Yöntemin doğruluğu için standart referans maddeye (Tea leaves sample, GBW-07605) uygulanmış ve %6 bağıl hata ile iyi bir sonuç elde edilmiştir [12].

Bir başka yöntem de, uygun bir şelatlaştırıcı maddenin önceden katı faz üzerine emdirilerek veya immobilize edilerek yapılan çalışmalardır. Bu çalışmalarda gün geçtikçe artmaya başlamıştır. Bu tür çalışmaların avantajı, her defasında şelatlaştırıcı maddenin ilave edilmemesidir. Bu yöntemlerden biri de mikroorganizma (maya, bakteri, alg ve fungus) çeşitlerini uygun bir katı faz üzerine immobilize etmektir. Bu tür çalışmalardan bazılarını aşağıdaki gibi sıralanabilir.

Kocaoba ve Arsoy, yaptığı çalışmada, *Pleurotus ostreatus*'u Amberlite XAD-4 polimeri üzerine immobilize ederek Cr(III), Cd(II) ve Cu(II) iyonlarının zenginleştirmesinde katı faz olarak kullanmışlardır. Bu çalışmada 200 mg adsorben kullanılarak 10 mL 1 M HNO₃ eluent ile %95'in üzerinde geri kazanım sağlanmıştır. Geliştirilen yöntem çeşme suyuna uygulanmıştır [34].

Baytak ve arkadaşları, badem kabuğu üzerine *Rhizopus oryzae* (mantar) immobilize ederek Cu(II), Fe(III), Mn(II) and Zn(II) elementlerinin zenginleştirme şartlarını araştırmışlardır. Bu çalışmada 10 mL 1 M HCl eluent kullanılarak 0,3 g biyoadsorbent

üzerinde %90'nın üzerinde analatlar geri kazanılmıştır. Geliştirilen yöntem, su, balık ve sebze örneklerine uygulanmıştır. Sonuçlar %10 altında bağıl hata ile bulunmuştur. Metal iyonların analizleri HR-CS alevli AAS ile yapılmıştır [35].

Baytak ve Arslan, nano TiO_2 'nin üzerine *Yamadazyma spartinae* (maya) immobilize ederek çoklu eser elementlerin zenginleştirmesinde katı faz olarak kullanmışlardır. Bu çalışmada çözeltinin pH'sı, çözelti akış hızı, eluent miktarı türü ve derişimi, çözelti hacmi gibi parametreler incelenmiştir. Geliştirilen yöntemde Cr(III), Cu(II), Fe(III), Mn(II), Ni(II) ve Zn(II) iyonlarını sırasıyla %98±2, %99±2, %100±2, %99±2, %99±4 ve %100±4 geri kazanmışlardır. Yöntemin doğruluğu için standart referans madde (Fresh water SRM 1643e) ve bilinen miktarda analat, çeşitli su örneklerine ekleyerek %7 bağıl hata ile iyi bir sonuç elde etmişlerdir. Çalışmada 0,5 cm iç çapında bir kolon ve çalışılan çoklu elementlerin analizinde ICP-AES cihazı kullanılmıştır [16].

Tüzen ve arkadaşları, çok duvarlı karbon nano tüp üzerine *Pseudomonas aeruginosa* immobilize ederek bazı ağır metallerin zenginleştirmesinde biyoadsorben olarak kullanmışlardır [36].

Rajfur ve arkadaşlar, *Spirogyra spartinae* (alga) kullanarak yüzey sularında metal iyonlarının tayininde kullanmışlardır [37].

Bakırcıoğlu ve arkadaşları, *Filamentous fungal* biyokütlesini TiO_2 nano partiküllerinin üzerine immobilize ederek kurşun iyonlarının zenginleştirme şartlarını araştırılmışlardır. Bu çalışmada, örnek çözeltinin pH'sı 4'te ve eluent olarak 288 μ L 1 M HCl kullanılmıştır. Yöntemin gözlenebilme sınırı ise 0,78 μ g/L olarak bulunmuştur. Çalışmada akışa enjeksiyonlu alevli AAS kullanılmıştır [38].

Baytak ve arkadaşları, *Aspergillus niger*'i silika gel üzerine immobilize ederek, sulu çözeltiden Cr(III), Cu(II), Zn(II) ve Cd(II) iyonlarının zenginleştirme şartlarının araştırılmasında katı faz özütleme tekniği (adsorpsiyon) ile biyoadsorben olarak kullanmışlardır.

Bu çalışmada, çözelti ortamının pH'sı, biyoadsorben miktarı, eluent miktarı derişimi ve türünün, çözelti akış hızı ve çözelti hacmi gibi parametrelerin çalışılan elementlerin geri kazanması üzerindeki etkisi incelenmiştir. Ayrıca çalışılan metal iyonlar üzerinde girişim yapabilecek diğer türlerin etkisi de incelenmiştir. Cr(III), Cu(II), Zn(II) ve Cd(II) iyonları sırasıyla %98±2, %98±3, %99±2 ve %100±2 seviyesinde geri kazanılmıştır. Geliştirilen yöntemi çeşitli su örneklerine uygulamış ve %8'den daha düşük bağıl hata ile iyi sonuçlar elde etmişlerdir [39].

BÖLÜM 3

3. MİKROORGANİZMALARIN ÖNEMİ, ÖZELLİKLERİ ve TUTUNMA TEKNİKLERİ

3.1. Mikroorganizmaların Önemi

Mikroorganizmaların öneminden sözedilirken yararlı ve zararlı olarak sınıflandırmak mümkün değildir. İnsanların denetimi altındayken yararlı olan bir mikroorganizma başka bir yerde zararlı olabilir.

Mikroorganizmaların başlıca zararları şunlardır:

- Mikroorganizmalar; insanları, bitkileri ve hayvanları hasta eder, hatta öldürür.
- İnsan ve hayvanlarda çeşitli zehirlenmelere neden olur.
- Gıdaları bozarak kullanılamayacak hâle getirir.
- Ekonomik zarara ve kayıplara neden olur.
- Ürün kalitesini ve verimini düşürür.
- İş gücü kayıplarına sebep olur.

Mikroorganizmaların başlıca yararları şunlardır:

- Doğadaki organik maddeleri çürüterek doğaya kazandırır.
- Çeşitli gıdalar (yoğurt, kefir gibi) ve çeşitli endüstriyel ürünler (alkol, aseton, bütanol vs.) mikroorganizma yardımıyla elde edilir.
- Biyolojik atık su arıtımında ve biyogaz reaktörlerinde mikroorganizmalardan faydalanılır.
- Maden yatakları mikroorganizmalar ile ıslah edilir.
- Biyolojik gübre, biyoinsektisid üretiminde mikroorganizmalar kullanılır.
- Doğadaki C, N, P, S gibi çevrimlerde mikroorganizmalar önemlidir.
- Genetik pek çok çalışmada mikroorganizmalardan yararlanır.
- Bağırsaklarda bulunan bazı mikroorganizmalar K vitamini sentezinde faydalıdır.

- Vücudumuzun normal florasında bulunan mikroorganizmalar zararlı mikroorganizmaların vücudumuza yerleşmesini engellemeye çalışır.
- Toprakta verimliliği artırır [40].

3.2. Mikroorganizmaların Genel Özellikleri

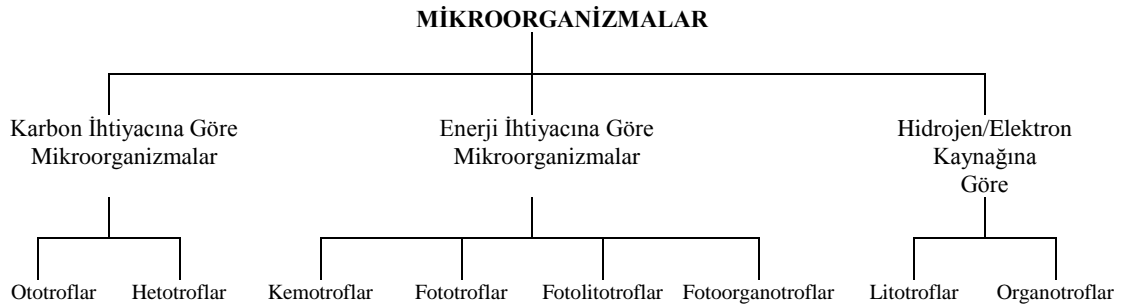
Mikroorganizmalar, çıplak gözle görülemeyecek kadar küçüktür, ancak mikroskop yardımıyla görülebilen canlılardır. Mikroorganizmalara bakteriler, mayalar, küfler, algler örnek verilebilir.

Tek bir hücre, çıplak gözle görülemezken tek bir hücreden milyonlarcası çoğalarak koloni denen ve çıplak gözle görülebilen yapılar oluşur. Ekmeğin, yoğurdun üzerindeki küfler, reçelin üzerindeki mayalar, sirkenin üzerinde toplanan sirke anası, vücutta çıkan iltihaplı sivilceler ve çıbanlar, aslında koloni denen yapılardır.

Mikroorganizmaları yararlı ve zararlı olarak sınıflandırmak mümkün değildir. İnsanların denetimi altındayken yararlı olan bir mikroorganizma başka bir yerde zararlı olabilir. Örneğin, sirke yapımında kullanılan bakteri, şarap fabrikasına bulaşırsa işletmenin tüm şarabını sirkeye çevirir ve büyük ekonomik kayba neden olur [40, 41].

3.3. Mikroorganizmaların Besin İhtiyaçları için Gerekli Maddeler

Mikroorganizmaların besin istekleri yüksek yapıları organizmalara kıyasla genel olarak daha azdır. Değişen çevre şartlarına göre metabolizmalarını kolayca değiştirirler. Mikroorganizmalar gelişmek ve çoğalabilmek için su, enerji kaynağı, azot kaynağı, vitaminler ve minerallere gereksinim duyarlar.



Şekil 3.1. Mikroorganizmaların gereksinimlerine göre sınıflandırılmaları.

3.4. Mikroorganizmaların Metallere Tutunması

Mikro organizmalar yüzeylere biyofilm oluşturarak tutunurlar. Biyofimler, bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri polimerik yapıda jelsi bir tabaka içinde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluk olarak tanımlanabilir [42].

Bu jelsi tabaka, bakteri hücreleri tarafından üretilen terminolojide “hücre dışı polimerik yapı”, “ekzopolisakarit” ya da “ekzopolimer (EPS)” adı verilen polisakarit bazlı bir ağ yapısıdır [43]. Bir başka tanımlamaya göre biyofilm, birbirine ya da bir yüzeye yapışık bakterinin organik bir polimer matriks içine gömülmesidir [44].

Polisakarit, protein, DNA ve sudan oluşan ekstraselüler matriks biyofilm hücrelerinin tutunmasını sağlar. Yüzeye sıkıca tutunan bakteri burada çoğalarak önce mikrokolonileri, mikrokolonilerde büyüyerek ve genişleyerek biyofilm tabakasını oluşturur.

3.5 Mikroorganizmaların Bir Destek Üzerinde Tutunması Teknikleri

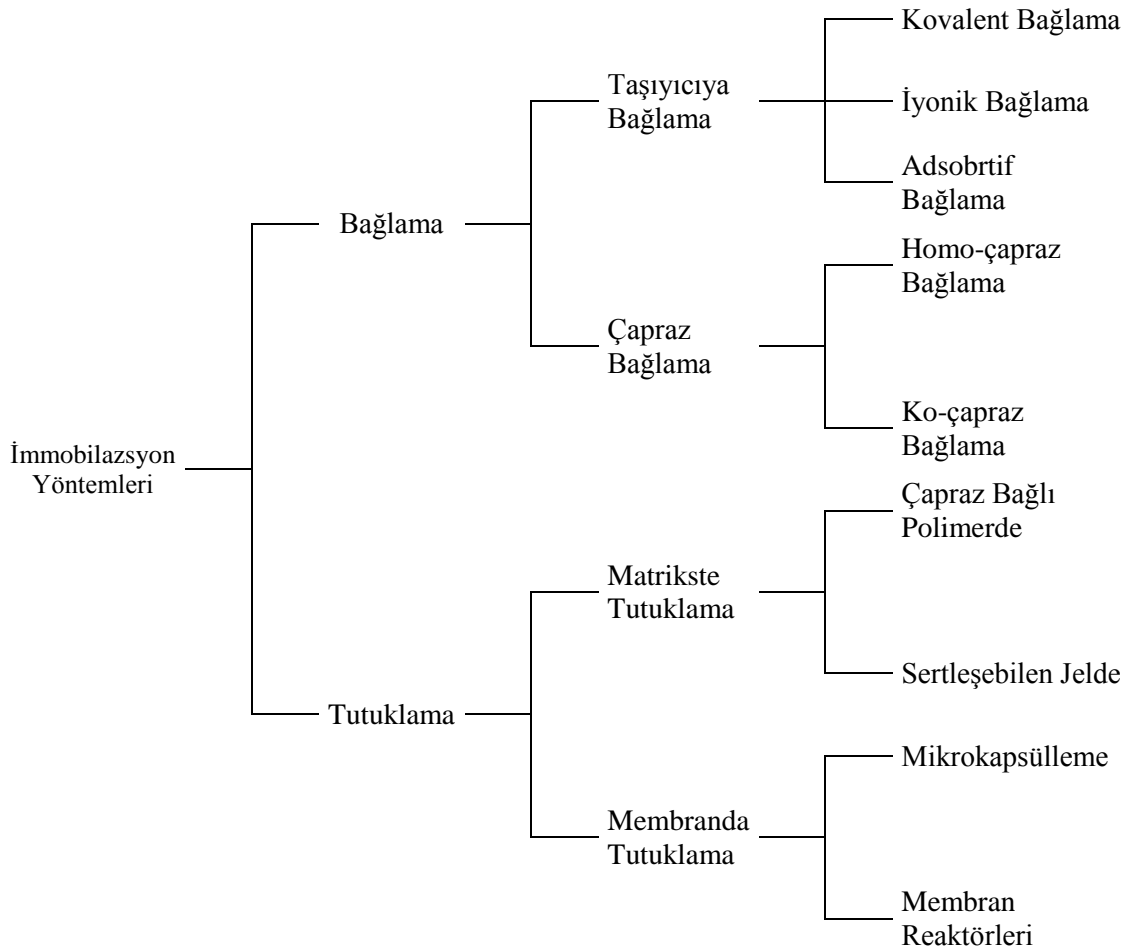
Mikroorganizmaların bir destek üzerine tutturulmasına immobilizasyon denir. Immobilizasyon; çözültide serbest hareket edebilen mikroorganizmaların suda çözünmeyen reaktif polimerik destek materyaller kullanılarak hareketlerinin sınırlandırılmasına denir [45].

İmmobilize olmuş mikroorganizmalarda, mikroorganizma hareketleri sınırlandırılmış ve belli bir desteğe veya polimerik matriks’de alıkonularak tekrar tekrar katalitik aktivite göstermesi amaçlanmıştır. Immobilizasyon uygulamaları hücresel organellere, mikrobiyal hücrelere, bitki hücrelerine ve hayvan hücrelerine v.b. uygulanabilir [46].

İmmobilizasyonun üstünlükleri;

-Tepkime sonunda ortamdan kolayca uzaklaştırılabilir (süzme, santrifüjleme vb.) ve ürünlerin enzim tarafından kirletilmesi gibi bir problem yaratmaz.

- Çevre şartlarına (pH, sıcaklık vs.) karşı daha dayanıklıdır.
- Birçok kez ve uzun bir süre kullanılabilir.
- Sürekli işlemlere uygulanabilir.
- Doğal mikroorganizmaya göre daha kararlıdır.
- Ürün oluşumu kontrol altına alınabilir.
- Birbirini izleyen çok adımlı tepkimeler için uygundur.
- Bazı durumlarda serbest mikroorganizmadan daha yüksek bir aktive gösterebilir.
- Mekanistik çalışmalar için uygundur [46-48].



Şekil 3.2. Başlıca immobilizasyon yöntemleri.

İmmobilizasyonda doğal veya sentetik birçok organik ve inorganik materyal kullanılmaktadır. Taşıyıcı membran, suda çözünmeyen katı veya polimer olabilir. İmmobilizasyonda kullanılan taşıyıcılarda (destek materyallerde) çeşitli özellikler aranır. Bunlar; Hidrofilik karakter, suda çözünmeme, gözenekli (poröz) yapı, mekanik stabilite ve uygun parçacık formu, kimyasal veya termal kararlılık, kovalent bağlamada kullanılacak taşıyıcılar yumuşak koşullarda tepkime verebilen gruplar taşımaları, mikroorganizmalara karşı dirençlilik, ucuzluk, zehirsizlik, rejenere olabilmeleri [46, 48].

Hücre immobilizasyonu için bir çok yöntem vardır. Bunlar enzimler için geliştirilmiş tekniklerdir. Buna rağmen enzim immobilizasyonunda kullanılan yöntemlerin tamamı hücreler için kullanılmaz. Enzim immobilizasyonunun iki genel tipi mikroorganizmalar için de kullanılır. Bunlar, desteğe tutturma ve hapsetmedir. Bunlardan en çok tercih edilen teknik ise hapsetme yöntemidir [46].

A) Tutturma

- 1) Desteksiz: Birikme (Agregasyon) ya da çapraz bağlayıcılar ile çökeltme
- 2) Destekli
 - a) Kovalent bağlanma
 - b) İyon değiştiricilere yada inorganik biyofilmlere adsorpsiyon.

B) Hapsetme

- 1) Organik polimerlere
- 2) İnorganik polimerlere
- 3) Yarı geçirgen zarlara

3.5.1. İmmobilizasyon

3.5.1.1. Desteksiz immobilizasyon

Bazı organizmalar örneğin; mayalar birikme eğilimi gösterirler. Çevresel koşullar organizmaları birikmeye iterler. Fungus ve bakteri sporlarında bu olay görünür. Organizmaların hücre duvarları serbest amino ve/veya karboksil grupları içerirler. Glutaraldehit, benzidimin, triklor-s-triazin, heksametilendiizosiyanat gibi çapraz

bağlayıcı kullanılarak hücre duvarındaki fonksiyonel gruplarla bir çapraz örgü oluşturularak birikme sağlanabilir [45, 48].

3.5.1.2. Destekli immobilizasyon:

Kovalent bağlanma: Çeşitli taşıyıcılara hücrelerin kovalent bağ ile bağlanmasında glutaraldehit ve başka çapraz bağlayıcılar kullanılır. Çapraz bağlayıcı ile hücre ve destek bir arada tutularak immobilizasyon sağlanabilir [45, 46].

Adsorpsiyon: Bir hayli mikroorganizma katı yüzeye yapışma yeteneğine sahiptir. Bu özellik kullanılarak çeşitli destek materyallere mikroorganizmalar immobilize edilebilir. Bazı memeli hücreleri bu şekilde; polistirene, kollojene, agaroz ve selüloza bağlanırlar [45].

3.5.2. Hapsetme

Bu yöntemde polimer jeller içinde hapsetme diyebiliriz. Mikroorganizmaların üç boyutlu polimerik ağ içinde hapsedilmesi çok popüler bir yöntemdir. Hücre etrafında polimer ile bir örgü oluşturulur. Oluşan örgünün gözenekleri, hücre molekülünden küçük, substrat ve ürün moleküllerinden büyüktür. Bu yüzden hücreler kimyasal bağ ile bağlı olmadıkları halde dışarı çıkamazlar adeta bu oluklarda hapsolurlar. Hücrenin hareketi kısıtlanır; ancak substratın içeri girişi ve ürünün dışarı çıkışı mümkündür. Çeşitli enzim ve hatta mikroorganizmalarda bu şekilde tutuklanabilmektedirler. Çeşitli hücrelerin hapsedilmesinde kullanılan polimerler, poliakrilamit, poliüretan, jelatin, agaroz, alginat v.b. organik veya inorganik maddelerdir.

Bu yöntemde hücre çok değişik boyutlarda yarı geçirgen zarlı yapay hücreler (mikrokapsüller) içinde de hapsedilmektedir. Mikrokapsüller içlerindeki maddeleri dışarı geçirmemekte ancak substratın içeri girişi ve ürünün dışarı çıkışı çok kolay olmaktadır.

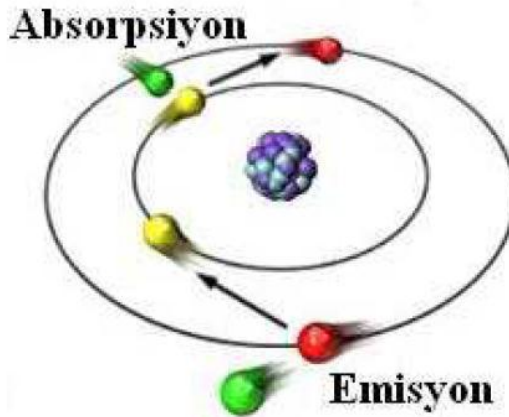
BÖLÜM 4

4. ATOMİK SPEKTROSKOPİ

Kuantum kuramına göre atomlar, ancak elektron konfigürasyonuna ve dış elektronlarının belirli enerji düzeyleri arasındaki geçişlerine bağlı belirli potansiyel enerji düzeylerinde bulunabilirler. Elektronların bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri ile ilgili atomik spektrumlar belirlenmiştir.

Atomlar, elektromanyetik ışınımı absorbe ederek en düşük enerji düzeyinden (temel düzey, temel hâl) uyarılmış düzeylere geçerler (uyarılmış hâl). Bu olaya atomik absorpsiyon denir ve her atom için absorpsiyon spektrumları belirlenir.

Elektromanyetik ışınımı absorbe ederek en düşük enerji düzeyinden uyarılmış düzeylere geçmiş olan atomlar, temel düzeye dönüş sırasında ultraviyole veya görünür bölge sınırları içinde ışınım enerjisi yayarlar. Bu olaya da atomik emisyon denir ve her atom için emisyon spektrumu da belirlenir.



Şekil 4.1: Işın absorpsiyonu ve emisyonu

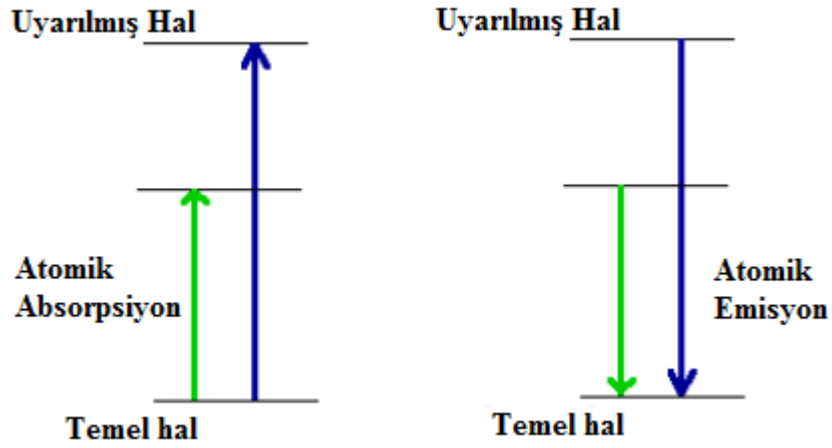
Uyarılmış hâldeki bir atom daha yüksek bir enerji seviyesinden (E_2) daha düşük bir enerji seviyesine (E_1) geçtiği zaman, ν frekansında spektral bir elektromanyetik ışınım

yayar. Bu enerji değişmesi (E_2-E_1) , $h\nu$ kuantum enerjisi şeklinde tayin edilir. Bu olaya emisyon denilmektedir.

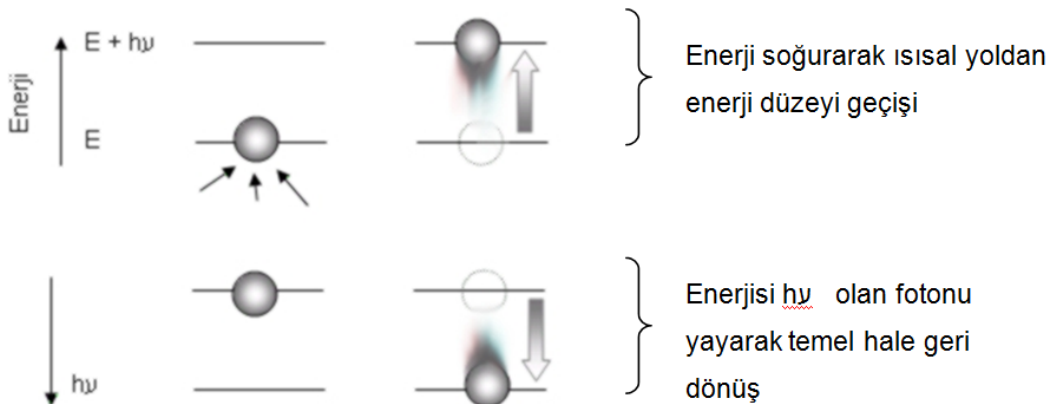
$$\Delta E = (E_2-E_1) = h\nu \quad (4.1)$$

Tersine olarak, temel seviyesindeki bir atom, ν frekansında bir elektromanyetik ışına maruz kalırsa, yüksek bir enerji seviyesine geçer. Burada $h\nu$ kuantum enerjisine absorpsiyon denilmektedir.

$$E_2 = E_1 + h\nu \quad (4.2)$$

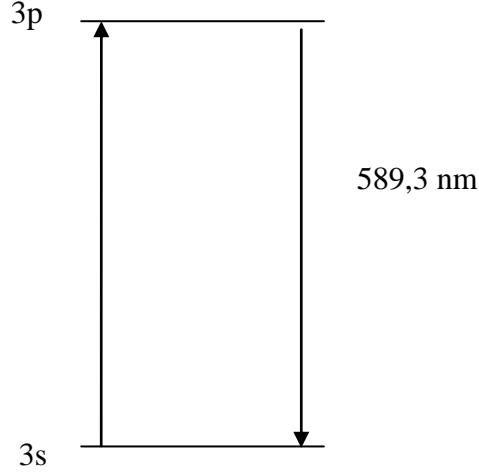


Şekil 4.2: Atomik absorpsiyon ve emisyon



Şekil 4.3: Atomlarda absorpsiyon ve emisyon olaylarının meydana gelişi

Atomik emisyon veya absorpsiyonda spektral bir çizginin, birisi temel halde olan iki elektronik enerji seviyesi arasındaki geçişine rezonans çizgisi adı verilir. Bir maddenin temel hâliyle uyarılmış hâlleri arasındaki enerji farkları, başka bir maddeninkinden farklı olduğundan, her maddenin kendine özgü bir absorpsiyon ve emisyon spektrumları vardır.



Şekil 4.4 Sodyumun floresans veya rezonans ışınlanması

Gaz hâlindeki atomların veya gaz hâlindeki tek atomlu iyonların absorpsiyon, emisyon ve floresans özellikleri üzerine kurulmuş olan spektroskopi dalına atomik spektroskopi denir.

Atomik türlerin spektroskopik tayinleri, gaz ortamında gerçekleştiğinden tüm atomik spektroskopi işlemleri için ilk basamak atomlaştırmadır. Bu süreç sırasında numune, atomik bir gaz oluşturularak buharlaştırılır ve parçalanır. Yöntemin duyarlık, kesinlik ve doğruluk gibi nitelikleri, büyük ölçüde atomlaştırma basamağının verimliliği ve tekrarlanabilirliğine bağlıdır.

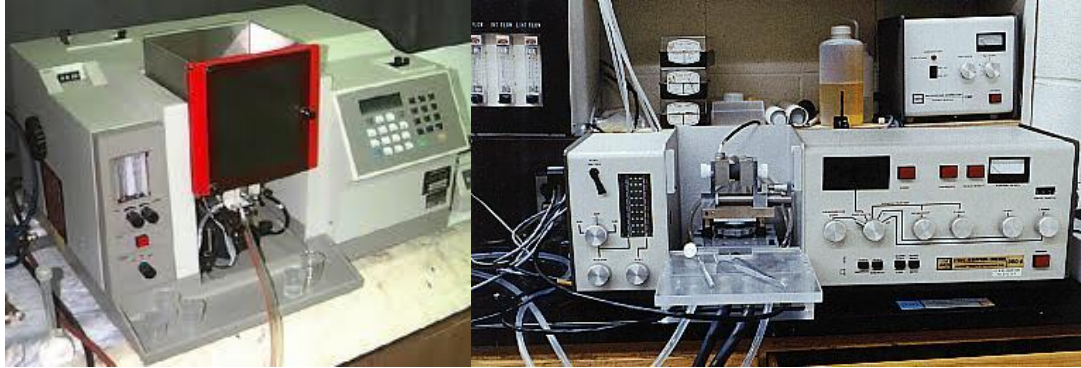
4.1. Atomik Apsorpsiyon Spektroskopisi

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde metallerin çoğu ile az sayıda ametal analiz edilir. Atomik absorpsiyon spektroskopisinde element elementel hale dönüştürüldükten sonra buharlaştırılır. Kaynaktan gelen ışın demetine maruz bırakılır ve ışın kaynağından gelen ışınları absorplar.

Gaz haline getirilmiş atomların elektromanyetik ışımayı absorblaması sonucunda sadece elektronik enerji düzeyleri arasında bir geçiş söz konusudur. Bu neden ile atomların absorpsiyon ve emisyon spektrumları dar hatlardan oluşmuştur. AAS her elementin birçok absorpsiyon hattı vardır. Bunların içinden rezonans hat olarak isimlendirilen ve ışımının dalga boyunun, temel enerji düzeyine geçerken yaydığı ışımının dalga boyuna eşit olduğu hat seçilir.

Sulu numune bir alev içine yukseltgen gaz karışımı ile puskurtulur. Bu şekilde 70 kadar element (metal/yarı metal) analiz edilir. Ametallerin absorpsiyon hattı vakum UV bölgeye dultuğunden bu elementler alevli AAS ile analiz edilemez. Yontemin hassasiyeti yuksedir. Eser miktarda madde analizi yapılabilir.

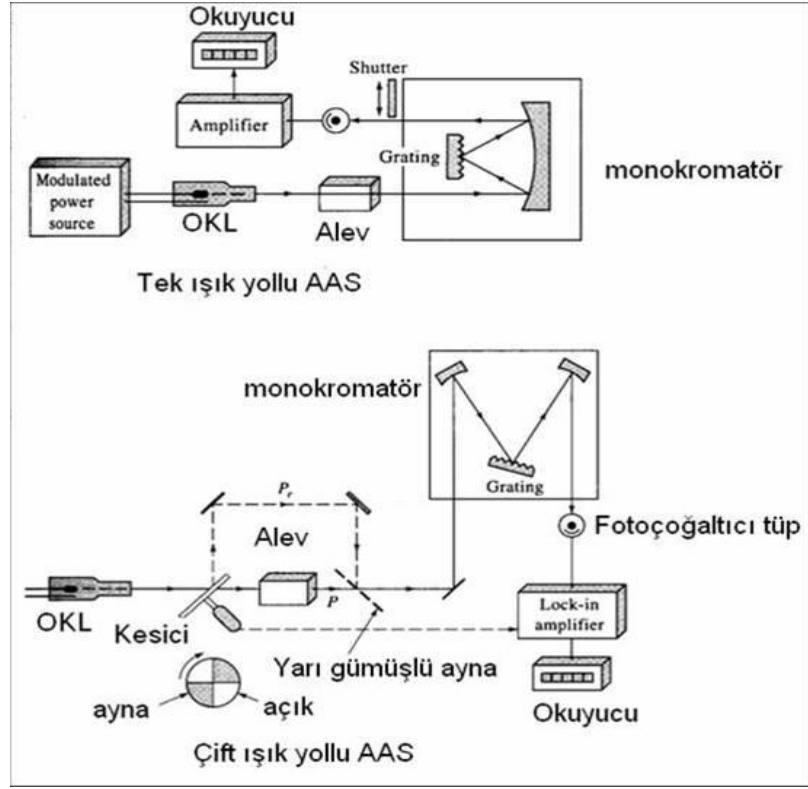
Işığı absorplayan atomlarda temel seviyedeki elektronlar, kararsız uyarılmış enerji düzeylerine geçerler ve absorpsiyon miktarı, temel düzeydeki atom sayısına bağlıdır.



Resim 4.1. Çeşitli AAS cihazları

4.1.1. Sistemin temel bileşenleri

Atomik absorpsiyon spektrofotometresinin bileşenleri, analiz edilecek elementin absorplayacağı ışığı yayan ışık kaynağı, örnek ozeltisinin atomik buhar haline getirildiği atomlaştırıcı, çalışılan dalga boyunu diğer dalga boylarından ayrıştırılmasına yarayan monokromatör ve ışık şiddetinin luldüğu dedektrdur.



Şekil 4.5. AAS çalışma şeması



Resim 4.2. Alevli AAS cihazı

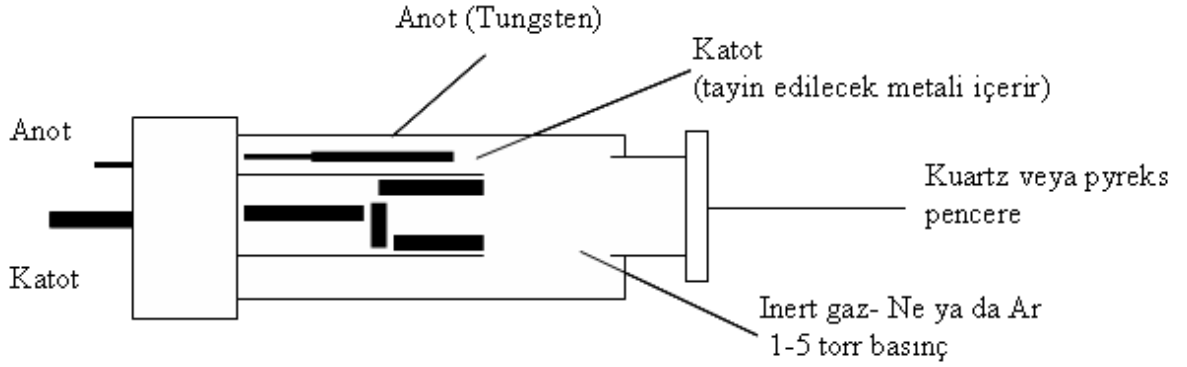
4.1.2. Işın kaynakları

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

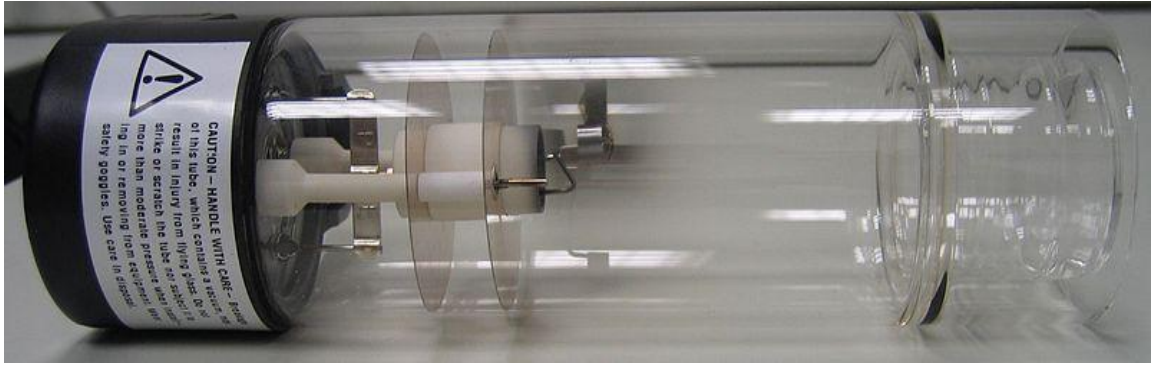
- Oyuk Katot lambası
- Elektrotsuz Boşalım Lambası

4.1.2.1 Oyuk katot lambası

AAS'de kullanılan ışık kaynaklarından biri olan ve en fazla tercih edilen oyuk katot lambası düşük basınçta neon veya argon gibi asal bir gazla doldurulmuştur. Lamba silindir şeklindedir. İçerisinde anot ve katot bulunmaktadır. Katot analizi yapılacak olan elementten yapılmıştır. Anot ise tungsten veya nikelden yapılmıştır. Anot ile katot arasına bir gerilim (100-400 V) uygulanır. Lamba içerisindeki asal gazın iyonlaşması sağlanır. Ortamdaki iyon ve elektronlar katoda çarparak yüzeyden metal atomlarını kopararak uyarırlar. Uyarılmış enerji düzeyinde bulunan atom kararsızdır ve temel enerji düzeyine dönmek isteyecektir. Bu atom temel enerji düzeyine dönerken katot elementine özgü dalga boyunda ışımaya yapacaktır. Yani hangi elementin analizi yapılacak ise o elemente ait oyuk katot lambası kullanılmalıdır.



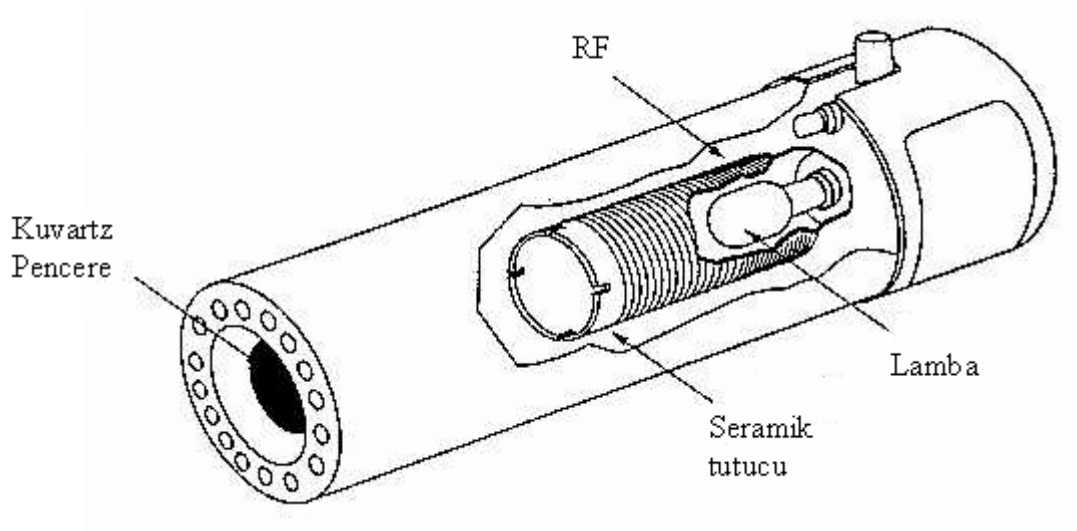
Şekil 4.6. Oyuk katot lambası



Resim 4.3. Oyuk Katot Lambası

4.1.2.2. Elektrotsuz boşalım lambası

AAS'de kullanılan diğer bir ışık kaynağı ise elektrotsuz boşalım lambalarıdır. Bu lamba ise uçucu ve absorpsiyonu 200 nm'den küçük olan elementler için kullanılmaktadır. Sürekli ışık kaynağı olarak bilinen hidrojen, döteryum ve yüksek basınçlı ksenon lambaları geniş bir spektrumda ışımaya yapmaktadırlar. Atomları ise çok dar bir hatta absorpsiyon yaptıkları için kullanılan ışık kaynaklarının da dar bir hatta emisyon yapmaları gerekmektedir. Bu nedenle sürekli ışık kaynaklarının kullanılması doğru sonuç vermemektedir.



Şekil 4.7. Elektroliz Boşalım Lambası

4.1.2.3. Sürekli Radyasyon Kaynağı Ksenon Lamba



Resim 4.4 Ksenon Lamba

4.1.3 Monokromatörler

Monokromatörün ana görevi ölçüm çizgisini kotod materyalin emisyon çizgilerinden ve inert gazın çizgilerinden ayırmaktır. Ayırma prizmanın veya karşılayıcının büyüklüğüne, dağılım karakterine, spektrometrenin optik sistemiyle ve monokromatörün slit genişliğiyle yakından ilgilidir. Bir monokromatörün ayırım gücü ise onun yakın absorpsiyon bandlarının veya yakın iki spektral bandın ayırım yeteneğine bağlıdır.

Monokromatör iki slitten (bir giriş, bir çıkış) ve dağıtıcı bileşenden (bir prizma ve karşılayıcı) oluşur. Bir cihazın kalitesi spektrometrik tekniklerde (UV-visible veya plazma-AES gibi) büyük ölçüde monokromatörün niteliğine veya onun spektral band genişliğine bağlıdır.

4.1.4. Dedektörler

Atomik absorpsiyon spektrofotometrelerinde ışık sinyalinin elektrik sinyaline dönüştürülmesi için fotoçoğaltıcılar kullanılır. Bu dedektörlerde fotokatot yüzeyinde foton çarpması ile fırlatılan elektronlar diot denilen yüzeylere doğru elektriksel alanda hızlandırılır ve dioda çarpan her bir elektron, diot yüzeyinden birkaç elektron daha koparır. 12 dinot için $\sim 1,7 \times 10^7$ elektron açığa çıkar. Sonuçta foton sinyali genliği oldukça yüksek olan elektronik sinyale çevrilmiş olur. Böylece sayıları giderek artan elektronlar en sonunda bir anotta toplanarak elektrik akımına çevrilir.

Bir dedektörün ışığa karşı duyarlı olması, ışık şiddeti ile doğru orantılı bir sinyal üretmesi, üzerine düşen ışığa cevap verme, yani sinyal üretme süresinin kısa olması, kararlı olması ve üretilen elektriksel sinyalin yardımcı devrelerle çoğaltılması istenir.

4.1.5. Atomik absorpsiyon spektrometresinde görülen girişimler

AAS'de, nicel tayinlerde, örneğin derişimi standartlarla karşılaştırılarak bulunduğundan bağıl bir yöntemdir. Bu nedenle örneğin standarttan farklı olması girişimlere yol açar. Girişimler kaynaklarına göre; kimyasal, fiziksel, iyonlaşma, spektral ve zemin olmak üzere 5 kısma ayrılır. Fiziksel ve kimyasal girişimler birim hacimde oluşan temel düzeydeki atom sayısını etkiler. Zemin ve spektral girişimler ise doğrudan sinyale etki eder.

4.1.5.1. Kimyasal girişimler

Bu girişim örnekteki metal iyonlarının birlikte bulunduğu anyonların etkisinden doğmaktadır. Metal iyonu ortamda bulunan anyonlarla bileşik oluşturarak metalin atomlaşmasını önleyebilir. Bu girişimi önlemek için;

- Örnek ve standart matriksler benzetilir.
- Girişim yapan anyon, ilave edilecek başka bir katyon ile bağlanır.
- Tayin edilecek katyon kompleks içinde tutulur.

4.1.5.2. Fiziksel girişimler

Fiziksel girişim çözeltilerin farklı viskozitelere sahip olmalarından kaynaklanır. Örneğin standart çözeltiler çok seyreltik çözeltilerdir ve genellikle düşük viskoziteye sahiptirler. Ancak örnekler hazırlanırken, örnek hazırlama işlemlerinde genellikle yüksek asidik çözeltiler kullanılmaktadır. Örnek çözeltilerin viskozitesi daha yüksektir. Bu nedenle örnekten alev verilen çözelti daha az olacağından ortamda bulunan derişim gerçek derişimden düşüktür. Bu girişimi önlemek için ya örnek çözeltisi çiftdistile su veya saf su ile seyreltilir ya da standart çözeltiler hazırlanırken örnek hazırlamasında kullanılan asitler kullanılır. Böylece aradaki viskozite farkı azaltılarak girişim önlenmiş olur.

4.1.5.3. İyonlaşma girişimi

Yüksek sıcaklıkta kolaylıkla iyonlaşabilen bazı elementlerin, hava-asetilen alevinde ve kısmen de diazotoksit-asetilen alevinde iyonlaşmasından dolayı ortaya çıkan bir tür girişimdir. Bu durumda temel düzeydeki atom sayısının azalmasına neden olur. Bu girişimin önlenmesi için ya atomlaşma sıcaklığı düşürülür, ya da ortama (örnek ve standart çözeltilere) kolay iyonlaşabilen bir element ilave edilir. Ortama 500-5000 mg/L sodyum, potasyum, lityum, rubidyum veya sezyum ilave edilir. Alkali metallerin iyonlaşması sonucu oluşan elektron fazlalığı nedeniyle denge temel düzeydeki metal lehine kaydırılır. Analizi yapılan metalin iyonlaşması önemli ölçüde engellenir.

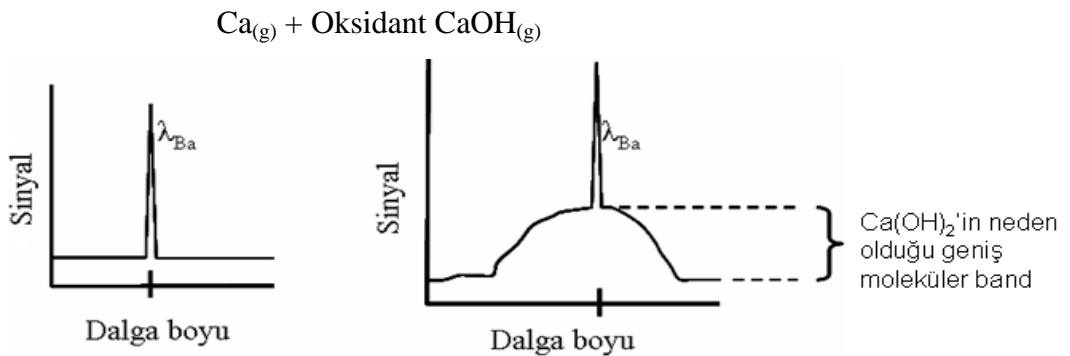
4.1.5.4. Spektral girişimler

Analizi yapılacak elementin absorpsiyon hattının (çizgisinin) örnekteki başka bir elementin absorpsiyon hattı ile çakışması sonucu bu tür girişim açığa çıkar. Ancak oyuk katot lambalarının ve elektrot boşalım lambalarının karakteristik ışık hatları çok dar olduğu için atomik spektral girişimler çoğu kez ihmal edilebilir düzeydedir.

4.1.5.5. Zemin girişimi

Örnek çözeltisinde bulunan çok atomlu türlerin ışığı absorplamasının sonucudur. Analiz elementinin ölçüm yaptığı dalga boyunda atomlaştırıcıda var olabilecek molekül ve radikaller, OKL'den yayılan ışığın bir kısmını absorplamaları sonucu ortaya çıkar. Bu girişimler sonucu absorbans okumaları daha da artar ve analizler yanlış yapılır.

Matrikste bulunan element, alev gazıyla etkileşince oksit molekülleri veya hidroksit radikelleri oluşturabilir. İncelenen element ile molekülün aynı dalga boyunda absorpsiyon yapması sonucu moleküler absorpsiyon girişimi görülür. Örneğin baryumun rezonans hattı ile kalsiyum hidroksit moleküler bandı çakışır. Hem kalsiyum ve baryum aynı zamanda atomlaşır hem de kalsiyumun oksidant ile etkileştiği durumunda kalsiyum hidroksit oluşur. Oluşan kalsiyum hidroksitte geniş absorpsiyon bandı oluşturarak, baryumun rezonans hattını örter. Bu olay spektral girişim sonucu ortaya çıkan bir etkileşimdir. Bu durum zemin sinyalinde önemli bir artışa neden olur ve ölçülen sinyal artar. Yüksek tuz derişimli örnekler kullanıldığında parçacıkların difüzyonu görülür.

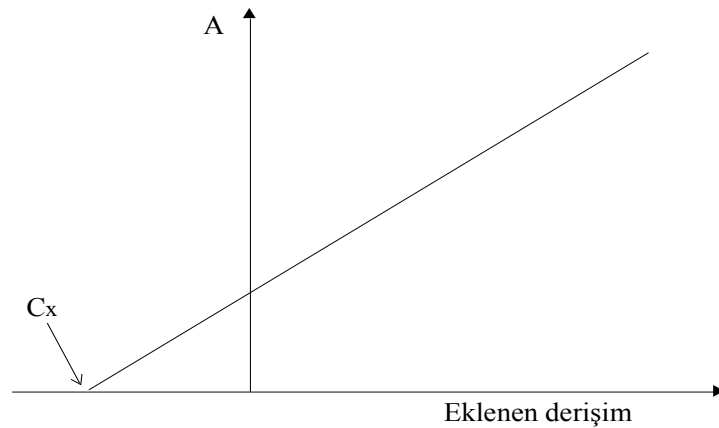


4.1.6. Alevli AAS'nin diğerk spektroskopik tekniklerle karşılaştırılması

Alevli AAS (FAAS) hızlı, çalışma şartları kolay ve maliyeti düşük analiz tekniklerinden biridir. Ancak tekniğin uygulamasında bazı kısıtlamalar bulunmaktadır. Örneğin analiz edilecek her element için farklı oyuk katot lambasının kullanılması en önemli dezavantajdır. Ancak, son 1-2 yıldan beri tek lambalı analiz edilecek atomun dalga boyu ayarlanacak şekilde yeni cihazlar üretilmiştir. Ayrıca, FAAS'de metalin parçalanması ve atomlaştırılması için alev kullanıldığından dolayı tayin limiti yüksek ve hassasiyeti düşüktür. Organik çözücülerin kullanımı sınırlıdır. Çünkü organik çözücüler alevde ışık yayarak, incelenen spektral hattın maskelenmesine sebep olurlar. FAAS'de her bir elementin karakteristik dalga boylarını içeren çoklu element lambalarına ihtiyaç duyulur. Ayrıca FAAS'nin tayin limiti ICP-OES ya yakın ama ICP-MS'e göre çok yüksek, dinamik aralığı ise çok düşüktür.

4.2. AAS'nin Analitik Performansı ile İlgili Terimler

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) ve ISO'nun (The International Organization for Standardization) önerilerine göre bütün analitik spektroskopik yöntemlerde (alev emisyon, atomik absorpsiyon ve atomik floresans) kullanılan analitik performansla ilgili terimler ve tanımlar aşağıda özetlenmiştir.



Şekil 4.9. Standart Katma Kalibrasyon Eğrisi

Cx: Bilinmeyen örneğin derişimi

4.2.1. Duyarlık

Standart çözeltiler için okunan absorbans değerlerinin, derişime karşı grafiğe geçirilmesiyle elde edilen kalibrasyon eğrisinin eğimi, duyarlık (S) olarak tanımlanır.

$$S = \frac{\partial A}{\partial C} \quad (4.3)$$

Bu bağıntı, Lambert-Beer yasasına uyulduğu sürece geçerlidir ve derişimden bağımsızdır. Doğrusal olmayan kalibrasyon fonksiyonlarında, duyarlık derişimine bağlıdır.

Atomik absorpsiyonda duyarlık, özel olarak analiz elementinin net %1'lik absorpsiyonuna veya 0,0044'lük absorbans değerine karşılık gelen derişim olarak tanımlanır. Bu büyüklüğe karakteristik derişim de denir. Karakteristik derişim, ışın kaynağına, atomlaşma verimine ve alev sistemi gibi faktörlere bağlıdır. Aletin performansı hakkında bilgi verir.

Bir cihazın veya bir yöntemin duyarlılığı, bir analit derişimindeki küçük farkları ayırdedebilme kabiliyetinin bir ölçüsüdür. Duyarlığı, kalibrasyon eğrisinin eğimi ve ölçüm aracının kesinliği veya tekrarlanabilirliği sınırlar.

IUPAC tarafından kabul edilen duyarlığın kantitatif tanımı kalibrasyon duyarlığı olarak yapılır. Kalibrasyon duyarlığı, ölçümün yapıldığı derişime karşı gelen noktada kalibrasyon eğrisinin eğimidir. Analitik kimyada kullanılan kalibrasyon eğrilerinin birçoğu doğrusaldır ve aşağıdaki eşitlik ile gösterilir.

$$S = mc + S_{bl} \quad (4.4)$$

Burada,

S: Ölçülen sinyal

C: Analitin derişimi

S_{bl} : Doğrunun y eksenini kestiği nokta

m: Doğrunun eğimi

dır.

Bu tür eğrilerde kalibrasyon duyarlılığı derişime bağlı değildir ve m'ye eşittir.

4.2.2. Doğruluk

Ölçülen sonuçlar, doğal olarak “gerçek” kabul edilen değerlerle aynı olmalıdır. Ancak, analitik işlemlerde çeşitli hataların olması nedeniyle, gerçek kabul edilen değere ulaşmak her zaman mümkün değildir. Doğruluk, analitik işlemin, çok sayıda tekrarlanmasıyla bulunan ortalama değerin gerçek kabul edilen değere yakınlığı olarak tanımlanır ve hata ile belirtilir. Ölçümün doğruluğu, analiz elementinin referans maddeleri kullanılarak veya bağımsız ve farklı analitik yöntemin uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar karşılaştırılarak belirlenir.

4.2.3. Kesinlik

Kesinlik, sonucun tekrarlanabilirliğinin bir ölçüsüdür. Çalışma şartlarında, uygulanan analitik işlemlerin tekrarlanması ile elde edilen sonuçların birbirine yakınlığı, kesinliği belirler. Kesinliğin en yaygın kullanılan ölçüsü standart sapma veya bağıl standart sapmadır.

4.2.4. Gözlenebilme sınırı (LOD)

%95 güvenle gözlenebilecek en küçük derişim veya miktar olarak tanımlanan gözlenebilme sınırı, aşağıdaki eşitlik ile hesaplanır.

$$C_L = \frac{\partial C}{\partial A} \cdot k \cdot \sigma \quad (4.5)$$

Burada;

$(\partial C / \partial A)$: Yöntemin duyarlılığının tersi,

σ : Tanık deney ölçümlerinden elde edilen absorbands değerinin mutlak standart sapması,

k : Bir katsayıdır.

k , genellikle istatistiksel kesinliğe bağlı olarak %95 veya %99,7 güvenle sırasıyla 2 veya 3 olarak alınır.

Derişim elde edilen sinyal büyüklüğünün bir ölçüsü olduğundan gözlenebilme sınırı doğal olarak duyarlılığa bağlıdır. Ayrıca, gürültü olarak tanımlanan zemindeki değişimlere de bağlıdır.

Gürültünün sebebi genellikle düşük enerjidir. Örneğin, kaynağın ışık şiddetinin analiz yapılan dalga boyunda zayıf olması ve alevin absorpsiyon yapması veya ışığı saçması sonucu ışık şiddetindeki dalgalanmalar gürültü sebebidir. Bir de elektriksel ölçüm sistemlerinden kaynaklanan gürültü vardır, fakat bu iyi tasarlanmış cihazlarda çok düşüktür ve diğer gürültü kaynakları yanında ihmal edilebilir.

4.2.5. Tayin sınırı (LOQ)

Gözlenebilme sınırından başka son yıllarda önem kazanan bir tanım da tayin sınırıdır. Normal olarak gözlenebilme sınırı yakınlarında tayin yapılamaz. Tayinin yapılabildiği derişim LOD değerinin 3-5 katıdır. Bu değere tayin sınırı denir. Tayin sınırı, tanık çözelti için ölçülen absorbands değerinin standart sapmasının yaklaşık 10 katına karşılık gelen derişim veya kütesine karşılık gelir.

BÖLÜM 5

5. DENEYSEL KISIM

5.1. Kullanılan Aletler

Bu çalışmada, yüksek çözünürlüklü sürekli alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (HR-CS FAAS, Analytik Jena AG, Jena, Germany marka, Ahi Evran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü), WTW Series İnoLab 720 model pH metre cihazı kullanıldı. Çalışılan elementler için aletsel parametreler Çizelge 5.1.'de verilmiştir. Atomlaştırıcı ortamı olarak hava/asetilen alevi, zemin absorpsiyonunu düzeltmek için de döteryum lambası kullanılmıştır.

Çizelge 5.1. Aletsel parametreler

Element	Çalışılan Dalga boyu (nm)	Alev Genişliği (mm)	Alev Yüksekliği (mm)	Hava/Asetilen akış Hızı (L/h)	Zemin Düzeltme
Co(II)	240.7254	50	4	40	Var
Cr(III)	359.3488	50	7	100	Var
Ni(II)	232.0030	50	4	40	Var

5.2. Aktive Edilmiş Alüminyum Oksit'in Deneye Hazırlanması

Aktive edilmiş alüminyum oksit (150 mesh) deneye hazırlamak için 5 g alınarak sırasıyla 2 M HCl, saf su, 2 M HNO₃, saf su içinde yaklaşık olarak 30 dakika sürelerle bekletildi. Daha sonra saf su ile nötrleştirildi ve etüvde 100 °C'da kuruyana kadar bekletildi. Kurutulan Al₂O₃ tozu daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere kapalı bir kutuda saklandı.

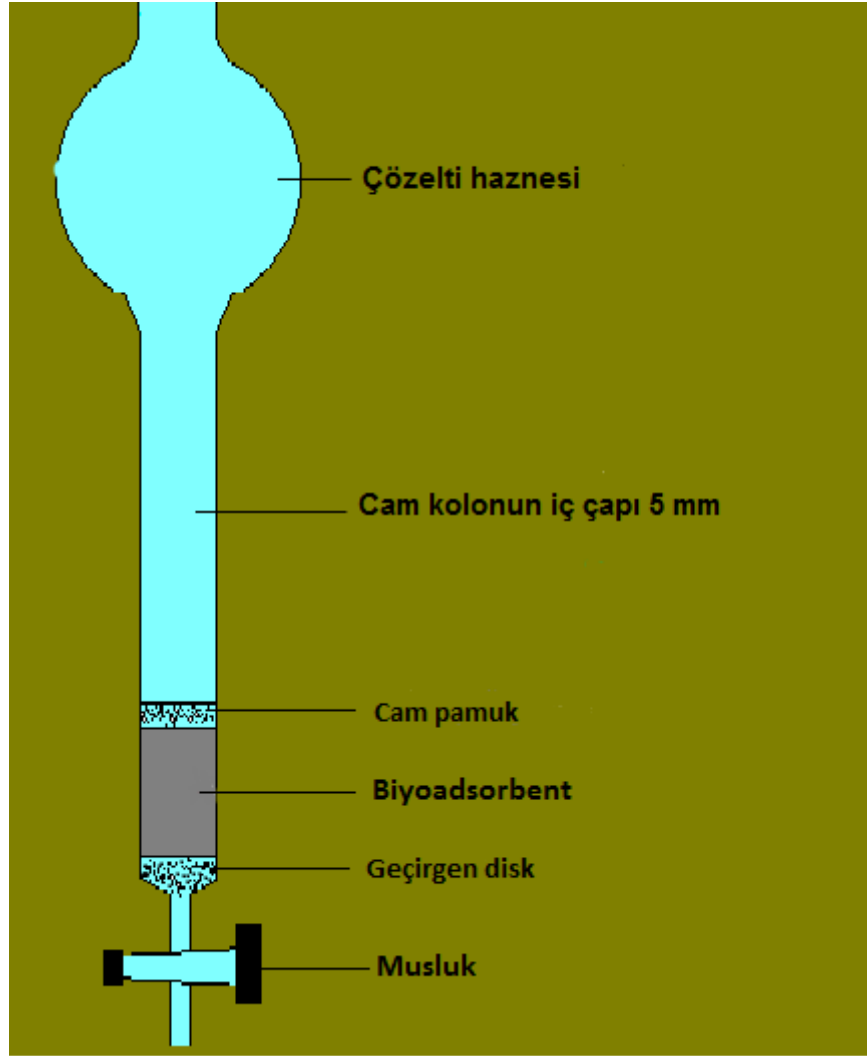
5.3. Biyokompozitin Hazırlanması

Mucor pusillus (mantar) kurutulmuş toz halinde Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Biyoloji Laboratuvarında temin edildi. Madde 5.2’de hazırlanan aktive edilmiş Al₂O₃ katı maddesinden 2 g alınarak, 200 mg toz halindeki *Mucor pusillus* küçük bir beher içinde 2-3 mL saf su ile cam baget yardımıyla iyice ıslatılarak karıştırıldı. Karışım 105 °C’da yaklaşık 45 dakika süreyle kurumaya bırakıldı. Bu işlem birkaç kez tekrarlandı ve sabit tartıma getirildi. Elde edilen *Mucor pusillus* immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompozit malzeme, Co(II), Cr(III) ve Ni(II) elementlerinin zenginleştirilmesinde katı faz olarak kullanıldı.

5.4. Adsorbsiyon Kolonunun Hazırlanması

Deney sırasında üst kısımda yaklaşık 500 mL çözelti alabilen 15 cm boyunda 0,5 cm çapındaki cam büret, kolon olarak kullanıldı.

Kolonlar yıkanıp temizledikten sonra kurutuldu ve alt kısım geçirgen camsı bir disk yerleştirildi. Bunun üzerine *M. pusillus* immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompozitten 200 mg yerleştirildi. Biyokompozit üzerine de bir parça cam pamuğu yerleştirildi. Kolondan önce 10 mL 1 M HCl çözeltisi sonra birkaç kez su geçirilerek kolondaki biyokompozit nötrleştirildi. Her çalışmadan önce kolon, çalışılan pH’da su çözeltisi geçirilerek şartlandırıldı. Deney kolonu Şekil 5.1’de şematik olarak verilmiştir.



Şekil 5.1. Deneyde kullanılan kolonun şematik görünümü

5.5. Kimyasal Maddelerin Hazırlanmaları

Deneylerde analitik saflıkta reaktifler ile GFL Alman firmasının ürettiği saf su cihazından elde edilen çift damıtık su kullanılmıştır. Hazırlanan stok ve standart çözeltiler, polietilen kaplarda ağzı kapalı bir şekilde koruma altına alınmıştır.

5.5.1. Stok kobalt(II) çözeltisi, 10.000 µg/mL'lik

4,9384 g $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck, Darmstadt, Germany) alınıp bir miktar saf suda çözüldükten sonra 100 mL'ye tamamlandı.

5.5.2. Stok krom(III) çözeltisi, 10.000 µg/mL'lik

6,6540 g $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (Merck, Darmstadt, Germany) alınıp bir miktar saf suda çözüldükten sonra 100 mL'ye tamamlandı.

5.5.3. Stok nikel(II) çözeltisi; 10.000 µg/mL'lik

4,9530 g $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck, Darmstadt, Germany) alınıp bir miktar saf suda çözüldükten sonra 100 mL'ye tamamlandı.

5.5.4. Sodyum stok çözeltisi, 1000 mg/L'lik

Bir beherde 0,2542 g NaCl (Sigma-aldrich) tartıldı. Tartım bir miktar saf suda çözüldü ve ölçülü balona aktarıldı. Son hacim 100 mL'ye tamamlandı.

5.5.5. Potasyum stok çözeltisi, 1000 mg/L'lik

Bir beherde 0,2590 g KNO_3 (Merck) tartıldı. Tartım bir miktar saf su ile çözüldü ve aynı su ile 100 mL'ye tamamlandı.

5.5.6. Kalsiyum stok çözeltisi, 1000 mg/L'lik

Bir beherde 0,3668 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich) tartıldı. Tartım bir miktar saf su ile çözüldü ve aynı su ile 100 mL'ye tamamlandı.

5.5.7. Magnezyum stok çözeltisi, 1000 mg/L'lik

Bir beherde 1,0550 g $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Riedel-de Haën) tartıldı. Tartım bir miktar saf su ile çözüldü ve aynı su ile 100 mL'ye tamamlandı.

5.5.8. Standart çözeltiler; 1000 µg/mL'lik ve 100 µg/mL'lik

Daha sonra Madde 5.5.1., Madde 5.5.2 ve Madde 5.5.3 hazırlanan 10.000 µg/mL çözeltilerden sırasıyla seyreltilerek 100 mL'lik 1000 µg/mL çözeltiler hazırlandı. Standart çözeltiler ve kısa süreli çalışmalar için 1000 µg/mL çözeltilerden 100 µg/mL çözeltiler hazırlanarak kullanıldı.

5.5.9. Hidroklorik asit çözeltisi; 2 mol/L'lik

Yoğunluğu 1,19 g/mL ve %37'lik derişik stok HCl çözeltisinden 41,4 mL alınıp saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.

5.5.10. Hidroklorik asit çözeltisi; 1 mol/L'lik

Yoğunluğu 1,19 g/mL ve %37'lik derişik stok HCl çözeltisinden 20,7 mL alınıp saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.

5.5.11. Hidroklorik asit çözeltisi; 0,5 mol/L'lik

Yoğunluğu 1,19 g/mL ve %37'lik derişik stok HCl çözeltisinden 10,4 mL alınıp saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.

5.5.12. Nitrik asit çözeltisi; 2 mol/L'lik

Yoğunluğu 1,40 g/mL ve %65'lik derişik stok HNO₃ çözeltisinden 34,63 mL alınarak saf su ile 250 mL' ye tamamlandı.

5.5.13. Nitrik asit çözeltisi; 1 mol/L'lik

Yoğunluğu 1,40 g/mL ve %65'lik derişik stok HNO₃ çözeltisinden 17,3 mL alınarak saf su ile 250 mL' ye tamamlandı.

5.5.14. Nitrik asit çözeltisi; 0,5 mol/L'lik

Yoğunluğu 1,40 g/mL ve %65'lik derişik stok HNO₃ çözeltisinden 8,7 mL alınarak saf su ile 250 mL' ye tamamlandı.

5.5.15. Kalibrasyon çözeltileri

Kalibrasyon çözeltileri, derişim ile absorbands arasındaki doğrusal ilişkinin sağlandığı bölgede, üst sınırı her üç element için de 5 µg/mL olacak şekilde standart çözeltilerden (Madde 5.5.8) 100 µg/mL'lik çözeltilerden seyreltilerek deneylerin yapıldığı gün hazırlanmıştır.

5.5.16. Model örnek çözeltileri

Kobalt, krom ve nikel için, 0,2 µg/mL'lik çözeltiler ayrı ayrı 100 µg/mL'lik çözeltilerden hazırlandı. Bunun için, standart element çözeltilerinden (Madde 5.5.8) Her üç element için de ayrı ayrı 0,1 mL alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

5.6. Zenginleştirme İşlemi ve Hesaplama Yöntemi

En uygun deneysel şartların belirlenebilmesi için hazırlanan stok çözeltiden pH'sı 2 ile 10 arasında sentetik numuneler hazırlandı. Çalışıldığı pH'da kolondaki biyokompozit aynı pH'ya şartlandırıldı.

Çalışılan analitleri içeren 10 µg Co(II), Cr(III) ve Ni(II) içeren 50 mL'lik model çözeltiler belirlenen pH'da kolondan geçirildi. Daha sonra katı faza tutunan analitler 10 mL 1 M HCl çözeltisi ile kolondan geri alındı. Kolonun tekrar kullanıma hazırlamak için ikinci bir 10 mL 1 M HCl çözeltisi geçirildikten sonra saf suyla ortam nötrleştirildi. Yukarıda açıklanan işlemler sırasıyla her pH değeri için ayrı ayrı uygulandı. Geri alınan çözeltideki metal iyonları yüksek çözünürlüklü alevli atomik absorpsiyon spektrofotometrisi ile tayin edildi. HR-CS FAAS ile yapılan tayinlerde

kalibrasyon grafiklerinden yararlanıldı. Metal iyonların geri kazanma verimi aşağıdaki gibi hesaplandı.

$$\% \text{ Geri Kazanma Verimi} = \frac{\text{AAS ile bulunan metal iyon derişimi } (\mu\text{g/mL})}{\text{Teorik olarak bulunması gereken derişim } (\mu\text{g/mL})} \times 100$$

5.7. Zenginleştirme İçin En Uygun Şartların Belirlenmesi

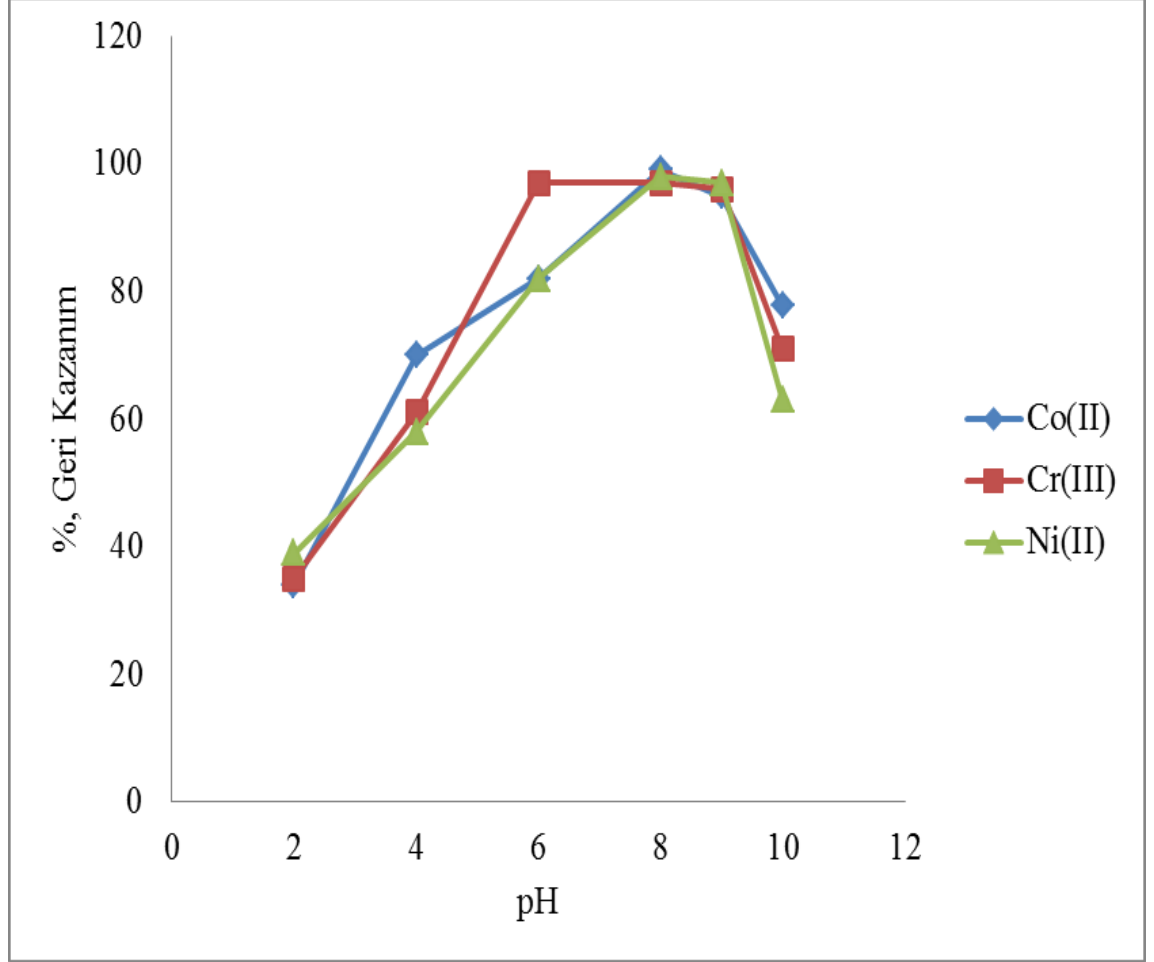
Bu çalışmada, önce her bir metal iyonu için ayrı ayrı en yüksek geri kazanma veriminin sağlandığı pH'lar belirlendi. Sonra, en yüksek geri kazanma veriminin sağlandığı pH'larda, uygun biyokompozit miktarı belirlendikten sonra, geri kazanma verimini etkileyebilecek diğer faktörlerin araştırılmasına geçildi. Sırasıyla eluent türü ve miktarı ve derişimi, çözelti hacminin etkisi ve akış hızının etkisi incelendi. Daha sonra, belirlenen en uygun şartlarda sonuçların tekrarlanabilirliği ve kolon kullanım sayısı da araştırıldı.

Yöntemin doğruluğunun belirlenmesi amacıyla belirlenen en uygun şartlarda standart referans maddeye (SRM-1573a Tomato Leaves), analit ekleme yöntemi ile de çeşme suyu, Kızılırmak suyu ve domates yaprağı örneklerinde Co(II), Cr(III) ve Ni(II) tayin edildi.

5.7.1. pH'nın çalışılan elementlerin geri kazanma verimine etkisi

Mucor pusillus immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompoziti üzerinde, en fazla geri kazanma veriminin sağlandığı pH değerlerinin bulunması amacıyla her bir metal iyonu için 10 µg içeren 50 mL'lik bir seri model örnek çözeltileri hazırlanarak pH'ları 2 ile 10 arasında ayarlandı. pH ayarlaması yaklaşık 0,1 M hidroklorik asit ve amonyak çözeltileri kullanılarak pH metre cihazı yardımı ile yapıldı. Biyokompozite tutunan Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarını geri almak için, elüent olarak 10 mL 1 M HCl çözeltisi kullanıldı. *M. pusillus* immobilize edilmiş aktif Al₂O₃'de pH'ya bağlı olarak çalışılan elementler için, elde edilen geri kazanma verimleri Şekil 5.2.'de gösterilmiştir.

Bu çalışmada ilk önce Co(II), Cr(III) ve Ni(II) için geri kazanma veriminin yüksek olduğu pH aralıkları belirlendi. Daha sonra diğer faktörlerin etkisi araştırıldı.

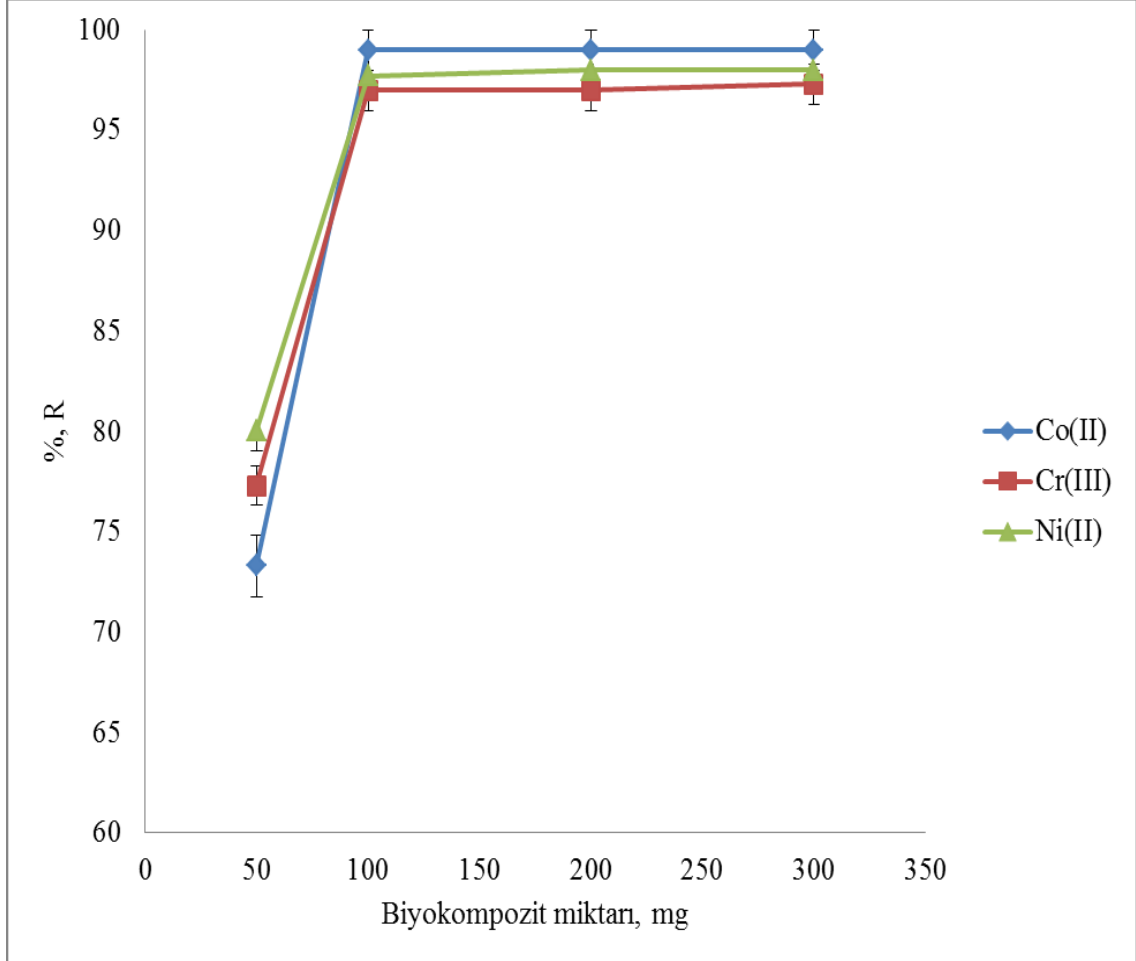


Şekil 5.2. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompozitte pH'nın Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarının geri kazanma verimine etkisi

5.7.2. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompozit miktarının geri kazanma verimine etkisi

Mucor pusillus immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompozit miktarının geri kazanma verimine etkisini incelemek için hazırlanan katı fazdan 50, 100, 200, 300 mg biyokompozitten tartılarak kolona yerleştirildi. Madde 5.6'e göre hazırlanan model çözeltiler, en uygun pH'ya ayarlandı ve kolondan 1 mL/min hızla geçirildi. Sonra, biyokompozite tutunan Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarını 10 mL 1 M HCl kolondan geçirilerek geri alındı. Daha sonra geri alınan çözeltideki metal iyonları HR-CS FAAS

ile tayin edildi. Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonunun geri kazanma verimine *M. pusillus* immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompozit miktarının etkisi Şekil 5.3’de görüldüğü gibidir.



Şekil 5.3. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompozitte, biyoadsorben miktarının Co(II), Cr(III) ve Ni(II)’nin geri kazanma verimine etkisi

5.7.3. Elüent çözeltisinin geri kazanma verimine etkisi

Model çözeltiler (Madde 5.5) kullanılarak Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarının geri kazanma verimine, eluent çözeltisinin türü ve hacminin etkisi araştırıldı. Bu amaçla, kolonda Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarını geri almak için, 0,5 M, 1 M HCl ve 0,5 M, 1 M HNO₃ çözeltilerinin farklı hacimleri denendi. Sonuçlar Çizelge 5.2 de görüldüğü gibidir. Buna göre en iyi geri kazanma veriminin 5 mL ve 10 mL 1 M HCl uygun

olduğu görülmüştür. Ancak burada 5 mL 1 M HCl tercih edildi. Zenginleştirme katsayısının artması nedeniyle 5mL 1 m HCl tercih edilmiştir.

Çizelge 5.2. Eluent türü ve miktarının *Mucor pusillus* immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompozitin kolonunda Co(II), Cr(III) ve Ni(II)'nin geri kazanma verimine etkisi

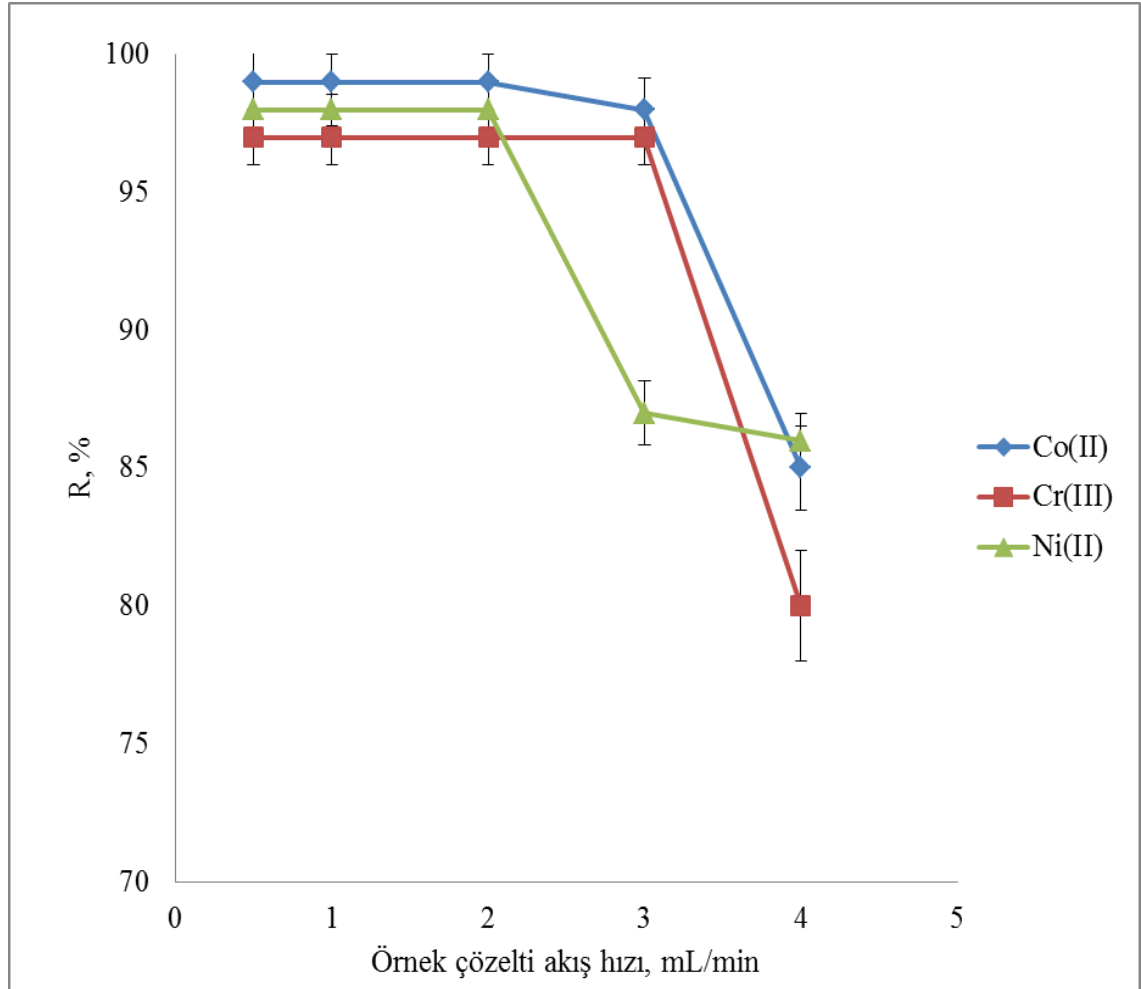
Element	Elüent Türü	Hacmi, ml	Derişimi, M	Geri Kazanım, ^{a)} %
Co(II)	HCl	10	0,5	86
		5	1	99
		10	1	99
	HNO ₃	10	0,5	80
		5	1	90
		10	1	94
Cr(III)	HCl	10	0,5	84
		5	1	98
		10	1	98
	HNO ₃	10	0,5	80
		5	1	93
		10	1	95
Ni(II)	HCl	10	0,5	80
		5	1	99
		10	1	99
	HNO ₃	10	0,5	78
		5	1	78
		10	1	92

^{a)}Deney sonuçları 3 verinin ortalaması olarak alınmıştır.

5.7.4. Örnek çözelti akış hızının geri kazanma verimine etkisi

Çözelti akış hızının geri kazanma verimine etkisini araştırmak amacıyla, (Madde 5.6) de belirtilen model çözeltiler, daha önce tespit edilen en uygun şartlarda (pH 8, biyokompozit miktarı 100 mg) *Mucor pusillus* immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompozit içeren kolonlardan 0,5-4 mL/min akış hızı aralığında süzüldü. Süzme işleminde çözelti akışı yerçekimi etkisinden yararlanılarak musluğun açılıp kapanmasıyla ayarlandı. Kolonda tutunan metal iyonları uygun eluent çözeltisi olarak belirlenen 5 mL 1 M HCl ile geri alındı. *M. pusillus* immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompoziti, çözelti akış hızının Co(II), Cr(III) ve Ni(II)'nin geri kazanma verimine

etkisi Şekil 5.4'de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre en uygun akış hızı Ni(II) için 2 mL/min, Co(II) ve Cr(III) için 3 mL/min olarak belirlenmiştir.

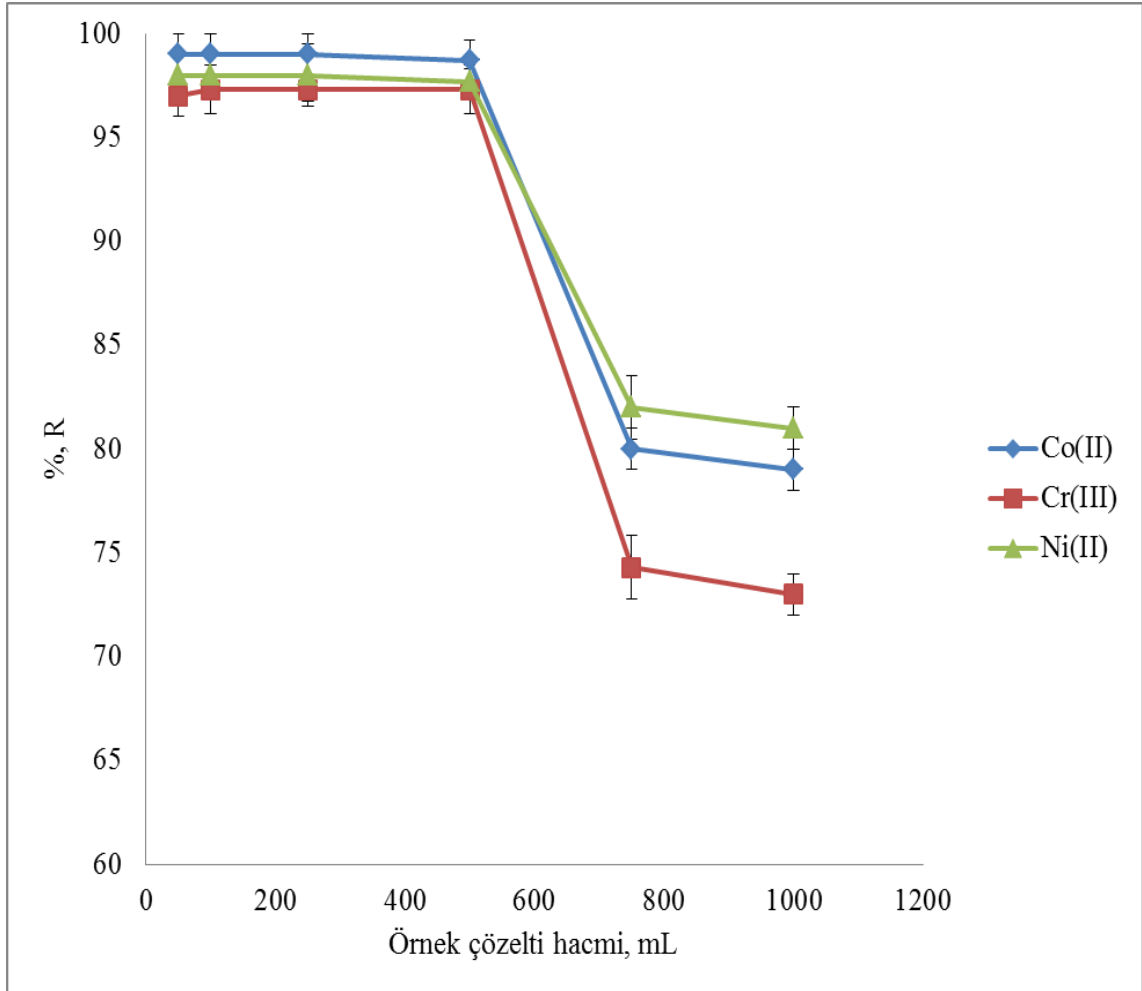


Şekil 5.4. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş aktif Al_2O_3 biyokompozitte örnek çözeltinin akış hızının Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarının geri kazanma verimine etkisi

5.7.5. Örnek çözelti hacminin geri kazanım verimine etkisi

Örnek çözelti hacminin geri kazanım verimine etkisini araştırmak amacıyla, ayrı ayrı Co(II), Cr(III) ve Ni(II) için 10 µg içeren, 50, 100, 250, 500, 750 ve 1000 mL'lik örnek çözeltileri hazırlanarak kolonlardan daha önce belirlenen en uygun şartlarda (pH 8, katı faz 100 mg, Ni(II): 2 mL/min, Co(II) ve Cr(III): 3 mL/min) süzüldü. Biyokompozite tutunan Co(II), Cr(III) ve Ni(II) 5 mL 1 M HCl çözeltisi ile geri alındı. Geri alınan çözeltilerdeki Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) iyonları HR-CS alevli AAS ile tayin edildi. Çözelti

hacminin çalışılan metal iyonların geri kazanma verimine etkisi Şekil 5.5'te gösterilmiştir.



Şekil 5.5. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş aktif Al_2O_3 biyokompozitin çözelti hacminin Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarının geri kazanma verimine etkisi

5.7.6. Diğer iyonların Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarının geri kazanma verimine etkisi

Gerçek örneklerle çalışıldığında ortamda Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarından başka iyonlar da bulunur. Bunlar, Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonları için önerilen zenginleştirme yönteminde çalışılan metal iyonların geri kazanma verimini etkileyebilir. Bu nedenle, Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonları için önerilen zenginleştirme yönteminin bu iyonların yüksek derişimlerde bulunmaları halinde de uygulanıp uygulanamayacağı araştırıldı.

10 µg Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonları ayrı ayrı içeren çözeltilere, girişim yapabilecek iyonlar katılarak çözeltiler 50 mL'ye tamamlandı. Çözeltiler belirlenen en uygun şartlarda kolondan geçirildi. Biyoadsorbanaya tutunan Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonları 5 mL 1 M HCl çözeltisi ile geri alındıktan sonra, geri alma çözeltisindeki Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonları HR CS FAAS ile tayin edildi. Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarının geri kazanma verimine diğer iyonların etkisi Çizelge 5.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.3. Girişim yapabilecek bazı iyonların Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarının geri kazanma verimine etkisi

Matriks İyonları	Derişim µg mL ⁻¹	Geri Kazanma Verimi (%R)		
		Co(II)	Cr(III)	Ni(II)
Na ⁺	-	99	97	98
	5	99	97	98
	50	98	96	97
K ⁺	-	99	97	98
	5	99	97	98
	50	97	96	97
Mg ²⁺	-	99	97	98
	2,5	96	95	96
	5	95	96	95
Ca ²⁺	-	99	97	98
	5	99	97	98
	50	97	95	96
	100	95	96	95
	250	94	95	94
Co ²⁺	-	-	97	98
	5	-	96	98
	10	-	95	96
Cr ³⁺	-	99	-	98
	5	98	-	97
	10	96	-	95
Ni ²⁺	-	99	97	-
	5	97	96	-
	10	96	94	-

Co(II); 0,2 µg mL⁻¹, Cr(III); 0,2 µg mL⁻¹ ve Ni(II); µg mL⁻¹ derişiminde olup, sonuçlar üç değerin ortalamasıdır.

5.8. Yöntemin Kesinliği ve Gözlenebilme Sınırı

Belirlenen en uygun şartlarda (pH, biyokompozit miktarı, eluent çözeltisinin türü ve hacmi, örnek çözeltisinin hacmi ve çözelti akış hızı) ayrı ayrı *Mucor pusillus* immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompozitte çalışılan her bir element için geri kazanma veriminin tekrarlanabilirliği araştırıldı. Bunun için, belirlenen en uygun deney şartlarında 5 ölçüm alınarak sonuçların bağlı standart sapmaları (BSS) ve %95 güven seviyesinde geri kazanma verimleri hesaplandı. Bulunan sonuçlar Çizelge 5.4'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.4. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompozitte yöntemin kesinliği

Metal iyonlar	^{a)} %R±ts / \sqrt{N}	% BSS	N
Co(II),	99±3	3	5
Cr(III)	97±2	2	5
Ni(II)	98±2	2	5

^{a)}%95 güvenle 5 değerlerin ortalamasıdır.

Geliştirilen yöntemin kesinliği Co(II), Cr(III) ve Ni(II) için 10 µg içeren 50 mL'lik stok çözeltilerde geliştirilen en uygun şartlarda araştırıldı. %95 güven seviyesinde (N=5) yöntemin kesinliği yüzde bağlı standart sapması cinsinden en fazla %3 olarak bulundu. Aletsel gözlenebilme sınırını belirlemek için pH: 8' e ayarlanan 50 mL saf su 2 mL/min akış hızında kolondan geçirildi. Kolon 50 mL 1 M HCl ile elue edildi. Her element için geri alma çözeltileri için 20 okuma yapıldı. Co(II), Cr(III) ve Ni(II) için aletsel gözlenebilme sınırı, bu çözeltiden elde edilen absorban değerlerinin standart sapmasının üç katına karşılık gelen derişim olarak hesaplandı. Gözlenebilme sınırı, %99,7 güvenle, Co(II), Cr(III) ve Ni(II) için sırasıyla 52 µg/L, 68 µg/L, 56 µg/L olarak bulundu. Analitik gözlenebilme sınırı ise aletsel gözlenebilme sınırının zenginleştirme katsayısına (ZK: 100) bölümü ile 0,52; 0,68; ve 0,56 µg L⁻¹ olarak bulundu. En uygun şartlarda sırasıyla, geri kazanma verimi %95 güvenle %99±3, %97±2, %98±2 olarak bulunmuştur.

5.9. Kolonların Kullanım Sayıları

Çalışmanın bu kısmında, biyokompozit olarak kullanılan *Mucor pusillus* immobilize edilmiş aktif Al_2O_3 'un verimlilik süresi ve biyokompozittin sürekli kullanılmasından dolayı elementlerin geri kazanma verimindeki değişiklikler incelenmiştir. Bunun için, bir günde sekiz ile on arası süzme ve geri alma işlemi yapılmış ve beş altı gün içinde bu işlem tamamlanmıştır. Kolonlar ile çalışma yapılmadığı zaman, kolon saf su ile doldurulmuştur. Kolonlarda toplam 60 süzme ve geri alma işlemi yapılmıştır. *M. pusillus* immobilize edilmiş aktif Al_2O_3 biyokompozitte geri kazanma veriminin kolonların kullanım sayısı Cr(III) için 45, Co(II) ve Ni(II) için 50 defadan sonra geri kazanma verimi %90'nın altına düştüğü görülmüştür.

5.10. Doğruluk ve Uygulama

Yöntemin doğruluğunu test etmek için standart referans maddeye, su ve su ve domates yaprağı örneklerine bilinen miktarda ekleme yöntemi ile araştırıldı. Bunun için standart referans madde (SRM-1573a Tomato Leaves) ve bilinen miktarda Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonları çeşme suyu, Kızılırmak suyu ve domates yaprağı örneklerine eklenerek tayini yapıldı. Bu yöntemin doğruluğunun sonucu %8 bağıl hata ile bulundu. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi çeşme suyuna, Kızılırmak suyuna ve domates yaprağına uygulandı.

5.10.1. Standart referans maddenin analize hazırlanması

Bu amaçla standart referans maddelerinden (SRM-1573a Tomato Leaves) yaklaşık 0,5 g alınarak cam beherler içinde 2 mL 2 M HNO_3 eklenerek kısmi olarak çözülmeye başlandı. Daha sonra yaklaşık 5 mL derişik HNO_3 ilave edilerek ısıtıcı tabla üzerinde yaklaşık olarak 150 ± 10 °C ye kadar 2-3 saat ısıtıldı. Daha sonra soğutulup üzerine yaklaşık 5 mL derişik H_2O_2 eklendi ve tekrar tamamen çözülmeye kadar ısıtılma işlemine devam edildi. Çözünme işlemi tamamlandıktan sonra örnek yaklaşık 2-3 mL

kalıncaya kadar buharlaştırıldı. Daha sonra bu çözelti 50 mL ye saf su ile tamamlandı ve geliştirilen zenginleştirme işlemi uygulandı. Sonuçlar Çizelge 5.5 de görüldüğü gibidir.

Çizelge 5.5. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompozitte standart referans maddede (SRM-1573a Tomato Leaves) Co(II), Cr(III) ve Ni(II) tayini

Metal iyonlar	Derişim (µg/g)		Bağıl hata,%
	Sertifikalı değer	Bulunan değer ^{a)}	
Co(II)	0,57±0,02	0,54±0,03	-5
Cr(III)	1,99±0,06	1,85±0,08	-7
Ni(II)	1,59±0,07	1,52±0,08	-4

^{a)}%95 güvenle 5 değer in ortalamasıdır.

5.10.2. Domates yaprağı örneklerinde analit ilavesi

Geliştirilen yöntem ile domates yaprağı örneğinde Co(II), Cr(III) ve Ni(II) metal iyonlarının tayini yapıldı. Bu amaçla, Kızılırmak nehri (Nevşehir-Gülşehir) kenarında domates yetişen bahçelerde örnekler toplandı. Alınan örnekler önce çeşme suyu ile yıkandı daha sonra saf sudan geçirildi. Örnekler etüvde yaklaşık olarak 105±5 °C de 24 saatt kurutuldu ve kilitli poşetlerde muhafaza altına alındı. Kurutulmuş domates yaprağı örneklerinden 0,5'er gram örnekler 250 mL'lik behere alındı. Örnek 2 mL 1 M HNO₃ ile ıslatıldı. Daha sonra 5 mL derişik HNO₃ eklendi. Karışım ısıtıcı tabla üzerinden 2 saat kadar ısıtıldı. Beher oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve beherin iç kenarları 0,5 M HNO₃ ile yıkandı. Karışım ortamına 5 mL derişik hidrojen peroksit (H₂O₂) eklendi. Isıtıcı tabla üzerinde tamamen çözününceye kadar ısıtmaya devam edildi. Çözünmenin tam olmadığı durumlarda yukarıdaki işlem tekrarlandı. Çözeltiler su ile 50 mL'ye tamamlandı. Daha sonra genel zenginleştirme işlemi uygulandı. Bulunan sonuçlar Çizelge 5.6'da verilmiştir.

Çizelge 5.6. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompoziti ile domates yaprağı örneklerinde Co(II), Cr(III) ve Ni(II) tayini

Metal iyonlar	Derişim (µg/g)		Bağıl hata,%
	Eklenen	Bulunan ^{a)}	
Co(II)	-	T.E*	-
	10	9,5±0,3	-5
Cr(III)	-	6,4±0,2	-
	10	15,2±0,8	-7
Ni(II)	-	T.E	-
	10	9,6±0,2	-4

^{a)}%95 güvenle 5 değerin ortalamasıdır.

*T.E: Tayin edilemedi

5.10.3. Su örneklerinin analize hazırlanması

Su örneklerinin analize hazırlanması için, çeşme suyu örnekleri Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Kimya Laboratuvarından ve Kızılırmak suyu, Avanos İlçesi merkezinden alındı. Polietilen kaplarına alınan sular, Kimya araştırma laboratuvarında 0,45 µm gözenekli selüloz süzgeç kâğıtlarından süzüldü ve ortam %0,2 nitrik asit ile asitlendirildi. Yöntemin doğruluğu için 250 mL'lik örnekler alınarak genel zenginleştirme işlemi yapıldı. Daha sonra ekleme yöntemi yapılarak genel zenginleştirme işlemi uygulandı. Sonuçlar Çizelge 5.7 de olduğu gibidir.

Çizelge 5.7. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş nano Al₂O₃ biyadsorbenti ile çeşme suyu ve Kızılırmak suyunda Co(II), Cr(III) ve Ni(II) tayini (Çözelti hacmi; 250 mL)

Su Örnekleri	Metal iyonlar	Eklenen(µg/L)	Bulunan(µg/L) ^{a)}	Bağıl hata, %
Çeşme suyu	Co(II)	-	T.E*	-
		10	9,5±0,3	-5
	Cr(III)	-	32,6±0,8	-
		10	39,8±0,9	-7
	Ni(II)	-	T.E*	-
		10	9,6±0,3	-4
Kızılırmak suyu	Co(II)	-	7,8±0,4	-
		10	16,6±0,8	-7
	Cr(III)	-	22,4±0,9	-
		10	29,7±0,9	-8
	Ni(II)	-	10,8±0,6	-
		10	19,6±0,7	-6

^{a)}%95 güvenle 5 değerin ortalamasıdır.

*T.E: Tayin edilemedi

BÖLÜM 6

6. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

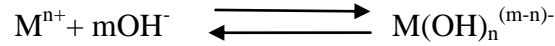
Yüksek çözünürlüklü alevli atomik absorpsiyon spektroskopisi (HR-CS FAAS), eser element analizlerinde örneğin çözelti olduğu veya kolayca çözelti haline gelebildiği birçok durumda yaygın olarak kullanılan bir analiz yöntemidir. Ancak birçok örnekte bulunan eser elementler HR-CS FAAS ile genellikle istenen hassasiyetle doğrudan tayin edilemezler. Çünkü alevli AAS'nin tayin sınırı bu elementlerin doğrudan tayini için yeterli değildir. Ayrıca, bir çok aletli analiz yöntemi gibi alevli AAS yöntemi de bağımlı bir yöntemdir ve standart çözeltilerle kalibrasyon gerektirir. Standart çözeltilerle analiz örneğinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin farklı olması, analizde girişime neden olur. Analizden önce girişim düzeltilmezse, sinyalde değişkenliğe, dolayısıyla analizde hataya neden olur.

- Alevli AAS ile kimyasal, fiziksel ve spektral girişim olmaksızın daha düşük derişimlerin tayini için genellikle bir zenginleştirme ve/veya ayırma yöntemi kullanılır. Ayırma sonucu analiz elementi büyük oranda örnek matrisinden de kurtulduğu için zemin girişimleri de azalmış olur. Birçok durumda zemin düzeltilmesine bile gerek kalmayabilir.
- Bu çalışmada ayırma ve zenginleştirme yöntemi olarak katı faz özütleme tekniği kullanılmıştır. Katı faz olarak *Mucor pusillus* immobilize edilmiş aktif Al_2O_3 biyoadsorbent olarak kullanılmıştır. Çalışmada özellikle Co(II), Cr(III) ve Ni(II) gibi eser elementlerinin zenginleştirilme şartları araştırılmıştır. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi çeşme suyuna, Kızılrırmak su örneklerine ve domates yaprağı örnekleri, standart referans domates yaprağı (SRM 1573a Tomato Leaves) uygulanarak çalışılan metal iyonların analizleri yapılmıştır.

6.1. pH'nın Geri Kazanma Verimine Etkisi

Örnek çözeltisinin pH değerinin çalışılan elementlerin geri kazanma verimine etkisi Şekil 5.3'de görülmektedir. Sonuçlar incelendiğinde; *Mucor pusillus* immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompozitte en yüksek geri kazanma veriminin sağlandığı pH değerleri Cr(III) için 6-9 arasında Co(II), ve Ni(II) için ise 8-9'dir.

Mikroorganizmalarda birçok ortak fonksiyonel grup vardır. Bunlardan bazıları amin, amid, imidazol, hidroksil, karboksil, fosfat, tiol ve tiyoeterdir [50]. Metal iyonları bu fonksiyonel gruplara genellikle nötrale yakın pH'larda (6-8 pH aralığında) daha fazla tutunurlar. Bu çalışmada bulunan değerler de literatüre uygun olarak 6-8 arasındadır. Daha düşük ve daha yüksek pH'larda geri kazanım azalmaktadır. Düşük pH'larda adsorpsiyonun az olmasının nedeni, mikroorganizma yüzeyindeki fonksiyonel grupların protonlar tarafından doldurulmasıdır [49]. Metaller mikroorganizma yüzeyine, fonksiyonel gruplardaki protonlarla yer değiştirerek bağlanır. Karboksil ve sülfat gruplarına da eşlenmemiş elektronlarla elektrostatik olarak bağlanır. Geri kazanma veriminin yüksek pH değerlerinde düşük olmasının nedeni, iyonik olmayan hidroksit komplekslerinin oluşması ve ayrıca metal iyonlarının,



tepkimesine göre hidroksil iyonlarına bağlanması olarak açıklanabilir [30].

6.2. Biyokompozit Miktarının Geri Kazanma Verimine Etkisi

Mucor pusillus immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompozit miktarının geri kazanma verimine etkisi Şekil 5.4'de görülmektedir. Elde edilen sonuçlara göre, Co(II), Cr(III) ve Ni(II) metal iyonları için 100 mg biyokompozitin uygun olduğu belirlenmiştir. Katı fazın miktarı artırıldığında, geri kazanma veriminin arttığı, ancak belli miktarlardan sonra geri kazanma veriminin çok az değiştiği gözlemlendi. Kolon çapı sabitken katı faz miktarının artması demek, yatak yüksekliğinin artması demektir. Bu durumda tutunma da artmaktadır. Fakat yatak yüksekliği artıkça hem süzme hızı azalmakta, hem de gerekli geri alma çözeltisinin hacmi artmaktadır. Bu durumda, son hacim büyük olduğu

için zenginleştirme faktörü azalacak, akış hızı da azaldığı için deney süresi uzayacaktır. Bu nedenle, bu çalışmada bütün metal iyonlar için yeterli geri kazanmanın ve akış hızının elde edildiği 100 mg *Mucor pusillus* immobilize edilmiş olan aktif Al₂O₃ biyokompozitin en uygun miktar olduğu belirlendi.

6.3. Elüent Çözeltisinin Geri Kazanma Verimine Etkisi

Örnek çözeltilerinin pH değerleri, en yüksek geri kazanma veriminin sağlandığı pH'lara (pH 8) ayarlanıp, 100 mg biyokompozit içeren kolonlardan geçirilmiş ve geri kazanma verimini %95'in üzerine çıkarmak amacıyla kolonlarda tutunan elementleri geri almak için kullanılan eluent çözeltisinin türü, hacmi ve derişiminin etkisi incelenmiştir. Sonuçta 5 mL 1 M HCl nin kullanımı zenginleştirme kat sayısının aratacağından dolayı 10 mL 1 M HCl'ye tercih edilmiştir.

6.4. Çözelti Akış Hızının Geri Kazanma Verimine Etkisi

Kolonlardan örnek çözeltilerinin akış hızı, elementlerin mikroorganizmaya tutunmalarını etkileyen en önemli etkenlerden biridir. Çünkü çözelti akış hızı, metal iyonlarının mikroorganizmanın bağlanma uçlarına kütle aktarımını etkilemektedir. Analizlerde akış hızı için istenilen özellik, geri kazanmada önemli bir azalma olmadan akış hızının mümkün olduğu kadar yüksek olmasıdır. Ancak bu durumda analiz süresi kısalmır ve çok büyük hacimli örneklerden zenginleştirme de kısa sürede tamamlanabilir. Bu çalışmada çözelti akış hızı, 0,5-4 mL/min hız aralığında incelendi. Çözelti akış hızı, yerçekimi etkisi ile kullanılan kolonlardaki musluklar açılıp kapatılarak ayarlandı. Genellikle 2-3 mL/min akış hızından sonra verimin düştüğü görülmektedir. Şekil 5.5'de incelendiğinde daha iyi anlaşılmaktadır.

Elde edilen sonuçlar; *Mucor pusillus* immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompozit için Şekil 5.5 gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre, *M. pusillus* immobilize edilmiş Al₂O₃ biyokompozitte en yüksek akış hızı Ni(II) için 2 mL/min, Co(II) ve Cr(III) için 3 mL/min olarak bulunmuştur. 2mL/min kullanılmıştır.

Çözelti akış hızı analizin süresi açısından önemlidir. Daha kısa zamanda yapılan bir analiz elbette diğer duruma göre daha üstündür. Ancak, yüksek hızlarda element ile katı faz arasındaki etkileşme süresi kısa olduğu için kütle aktarımını azalmakta, bu da geri kazanma verimini düşürmektedir.

6.5.Örnek Çözeltisi Hacminin Geri Kazanma Verimine Etkisi

Örnek çözeltisi hacminin veya çözeltideki metal iyonlarının derişiminin geri kazanma verimine etkisi, metal iyonlarının miktarları sabit olan farklı hacimlerdeki örnek çözeltilerinin en uygun şartlarda zenginleştirilmesiyle incelenmiştir. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş aktif Al_2O_3 biyokompozitte her üç metal iyonu için de 500 mL'ye kadar nicel geri kazanma verimlerine ulaşılmıştır. Bu hacimlerin üzerinde ise geri kazanma verimleri düştüğü görülmüştür. Bu durum Şekil 5.6' da görülmektedir.

Bu sonuçlara göre 500 mL'lik örnek çözeltiler süzldüğünde ve 5 mL geri alma çözeltisi ile geri alındığında zenginleştirme teorik olarak zenginleştirme faktörü 100 kat olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak, *M. pusillus*'nin aktif Al_2O_3 'e immobilize edilmesiyle oluşturulan biyokompozit hem eser metal iyonların analizlerinde hem de çevre örneklerindeki metal kirliliğinin giderilmesinde kullanılması mümkündür. Çözeltilerdeki element miktarları aynı olduğundan, çözelti hacmi artıka element derişimi de değışmektedir. 500 mL çözeltide 0,52 $\mu\text{g/L}$ Co(II), 0,68 $\mu\text{g/L}$ Cr(III) ve 0,56 $\mu\text{g/L}$ Ni(II) bulunmaktadır. Normal olarak bu derişimler alevli AAS'nin tayin sınırı altındadır. Ancak teorik olarak yapılan 100 kat derişirme ile Co(II), 52 $\mu\text{g/L}$ 'ye Cr(III) 68 $\mu\text{g L}^{-1}$ ve Ni(II) 56 $\mu\text{g/L}$ 'ye yükselmektedir. Bu sonuçlara göre, yüksek çözünürlüklü sürekli alevli AAS ile tayin edilemeyecek derişimde metal iyonları içeren bir su örneğinin, geliştirilen yöntemle zenginleştirildikten sonra analiz edilebileceğı söylenebilir.

6.6. Tekrarlanabilirlik

pH, biyokompozit miktarı, eluent çözeltisinin türü, hacmi ve derişimi, örnek çözeltisi hacmi, element derişimi gibi daha önce belirlenen en uygun şartlarda geri kazanma veriminin tekrarlanabilirliği, yani geliştirilen yöntemin kesinliği araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 5.4. incelendiğinde her bir element için tekrarlanabilirliğin oldukça iyi olduğu görülmektedir. Geri kazanma veriminin bağıl standart sapması ~ %3 mertebesindedir.

6.7. Kalibrasyon Grafikleri ve Gözlenebilme Sınırı (LOD)

Tayin edilen metal iyonlarının 100 ppm'lik standart çözeltilerinden alınarak hazırlanan kalibrasyon çözeltilerin derişimlerine karşı okunan absorbansları grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafikleri elde edilmiştir. Kalibrasyon grafiklerinin doğrusal olduğu aralık, tayinin yapılabildiği derişim aralığını belirtmesi açısından önemlidir. Yüksek derişimlerde doğrusallıktan sapma olacağı için doğrusallığın sağlandığı derişim aralığının tespit edilmesi gerekir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda, kalibrasyon grafiklerinin çalışılan her üç element için de 5 µg/mL'ye kadar doğrusal olduğu görülmüştür. Çalışma aralığının alt sınırı ise gözlenebilme sınırınının 3-5 katına karşılık gelen tayin sınırı değerleridir.

Geliştirilen yöntemin analitik performansı ile ilgili olarak analiz elementlerinin gözlenebilme sınırları de tayin edilmiştir. Model çözeltilerle elde edilen gözlenebilme sınırları sırasıyla Co(II), Cr(III) ve Ni(II) için, 52 µg/L, 68 µg/L ve 56 µg/L olarak bulunmuştur. Bu değerler zenginleştirme faktörüne bölüldüğünde ise 0,52 µg/L, 0,68 µg/L ve 0,56 µg/L elde edilmiştir. Model çözelti ile elde edilen bu değerlerin gerçek örnek tanığı ile elde edilene göre daha düşük olması beklenir. Çünkü gerçek örnek tanığı, model örneğe göre daha fazla çözücü madde içerir ve zemin değer sinyali daha yüksektir. Tayinde zenginleştirme yapıldığı için gözlenebilme sınırı değerlerinin zenginleştirme faktörü kadar daha düşük olması beklenen bir durumdur. Bu nedenle, belirlenen gözlenebilme sınırları, her element için elde edilen en yüksek zenginleştirme

faktörüne bölünmüştür. Bu şekilde elde edilen gözlenebilirlik sınır değerleri en çok 0,52-0,68 µg/L mertebesinde olup oldukça küçüktür ve hemen hemen elektrotermal atomlaştırıcı AAS'nin tayin sınırları mertebesinde. 0,52 µg/L'lik bir LOD için tayin sınırı $0,52 \mu\text{g/L} \times 3 = 1,56 \mu\text{g/L}$ olup, 100 kat zenginleştirme ile $156 \mu\text{g/L}'\text{lik} = 0,156 \mu\text{g/mL}'\text{lik}$ derişime karşılık gelmektedir. Elde edilen bu değer de rahatlıkla HR CS AAS de okunabilir.

6.8. Kolonların Tekrar Kullanılabilirliği

Kolonla yapılan zenginleştirme ve ayırma çalışmalarında kullanılan katı fazın defalarca tekrar tekrar kullanılabilir özellikte olması, kolaylık ve ucuzluk açısından oldukça önemlidir. Bu amaçla, kolonların tekrar kullanılabilirliği de araştırıldı. Elde edilen sonuçlara göre, Cr(III) için 45, Co(II) ve Ni(II) için ise 50 defa kullanılabilir. Her ne kadar kullanım sayısı artıka geri kazanma veriminde azalma olduysa da, aktif Al_2O_3 'e immobilize edilmiş *Mucor pusillus* içeren kolonda yaklaşık 50 kullanıma kadar geri kazanma veriminin %90'ın üzerinde olduğu görülmektedir. Bu sonuçlara göre, biyokompozitin tekrar kullanılabilirliği oldukça iyidir. Yaklaşık olarak arka arkaya yapılan 50 zenginleştirme işleminden sonra kolonun yenilenmesi gerekmektedir. Kolonda çok az miktarda (~ 100 mg) katı faz kullanıldığı için bir gramlık bir katı faz hemen hemen 500 işleme yeterli olmaktadır.

6.9. Alkali ve Toprak Alkali Metalleri ve Karışım Halinde Bulunan Elementlerin Geri Kazanma Verimine Etkisi

Bazı yeryüzü suları (deniz suyu gibi) fazla miktarda alkali ve toprak alkali metaller bulunmaktadır. Bu maksatla sözü geçen elementlerin çalışılan iyonlar üzerindeki geri kazanma verimine etkisi araştırılmıştır.

Çizelge 5.3'de görüldüğü gibi özellikle magnezyum ve kalsiyum için yüksek derişimlerde verimin gittikçe düştüğü görülmektedir. Dolayısıyla kolonda biyoadsorban olarak kullanılan biyokompozit ile deniz suyu gibi yüksek derişimlerde Ca ve Mg içeren

sularda, çalışılan metal iyonlarının tayin edilemeyeceği, ancak içilebilir sularda ise Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarının kullanılan biyoadsorbent ile çalışılabileceğini göstermiştir. Diğer taraftan karışım halinde bulunan C(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonları 10 µ mL ye kadar bir birini etkilemediği görülmüştür.

6.10. Uygulama

Bu alışmada *Mucor pusillus* Al₂O₃'e immobilize edilmiş biyokompozit Co(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarının zenginleştirilmesinde kullanılmıştır. Bu metal iyonların zenginleştirilmesi ve tayini için en uygun şartlar (pH, biyoadsorben miktarı, eluent çözeltisinin derişimi ve hacmi vb.) araştırılmıştır. Geliştirilen yöntem, belirlenen en uygun şartlarda gerekrneklere (Standart referans maddeye (SRM-1573a Tomato Leaves), eşme suyu, Kızılırmak suyu ve domates yaprağırnekleri) uygulanmıştır. Sonuçlar, izelge 5.5, izelge 5.6, izelge 5.7'de verilmiştir. Bulunan sonuçlardan geliştirilen yöntemin gerekrneklere uygulandığında doğru ve güvenilir sonuçlar verdiği anlaşılmaktadır. Analiz edilen bütün gerekrneklerdeki iyonlar *M. pusillus* immobilize edilmiş aktif Al₂O₃ biyokompoziti ile en fazla %8 bağıl hata ile tayin edilmiştir. Bu değerler gerekrnek analizleri için kabul edilebilir sınırlar içerisindedir. Sonuç olarak, *M. pusillus*'nin aktif Al₂O₃'e immobilizasyonu, bitki ve surnekleri gibi karmaşık yapıdaki ortamlardaki tayin edilen metal iyonların zenginleştirilmesinde kullanılabilir. Ayırma ile yabancı iyonların etkisi azaltılarak çalışılan elementler %8 ve daha küçük bağıl hata ile tayin edilebilmektedir.

Sonucun doğruluğu yanında kesinliği de tatmin edici olup, bağıl standart sapma değerleri %3'ten küçüktür.

6.11. Sonularınzetlenmesi

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar şylezetlenebilir:

- *Mucor pusillus* aktif Al₂O₃'e üzerine immobilize edilmiş biyoadsorbent ile Co(II), Cr(III) ve Ni(II) ntre yakın ortamdan zenginleştirilebilmekte ve yüksek çözünürlüklü sürekli alevli AAS ile tayin edilecek seviyeye getirilebilmektedir.

- Genellikle zenginleştirme çalışmalarında çözeltilere şelat oluşturuıcı maddeler ilave edilir ve bu kirlenmeyi artırır. Bu çalışmada ise Co(II), Cr(III) ve Ni(II) şelat oluşturuıcı madde ilave edilmeden zenginleştirilebilmiştir.
- Belirlenen en uygun şartlarda Co(II), Cr(III) ve Ni(II) nicel olarak geri kazanılabilmektedir.
- Geliştirilen yöntem ile Co(II), Cr(III) ve Ni(II), çeşme suyu, nehir suyunda ve domates yaprağı örneklerinde iyi bir doğrulukla tayin edilebilmektedir.
- Yöntemin doğruluğu için bilinen miktarda çalışılan metal iyonları gerçek örneklere ilave edilerek kontrol edildi ve bulunan sonuçlar -%8 hata ile analiz edildi.
- Analitik gözlenebilme sınırı sırasıyla 0,52 µg/L, 0,68 µg/L 0,56 µg/L bulunmuştur. Bu derişimler yüksek çözünürlüklü sürekli alevli AAS ile doğrudan tayin edilemez.
- Yöntemin gerçek örneklere uygulanabilirliği oldukça basit ve ucuzdur.
- Önerilen zenginleştirme yöntemi ile 100 kat zenginleştirme yapılabilmektedir.
- Biyoadsorban olarak kullanılan katı faz geri alma çözeltisi ile temizlendikten sonra 45-50 defa kadar tekrar kullanılabilir.

KAYNAKÇA

1. TS 266 (Turkish Standard), “Water intended for human consumption in Turkish”, Ankara, 2005.
2. Council Directive 98/83/EC, “Quality of water intended for human consumption”, *Official Journal of the European Communities*, L 330/32, 1998.
3. “Guidelines for Drinking Water Quality”, Volume 1, Recommendation, World Health Organization, Geneva, 2008.
4. Komarek, J.; Cervenka, R.; Ruzicka, T.; Kuban, V., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, *45*, 504–509, 2007.
5. H. Karimi, M. Ghaedi, A. Shokrollahi, H.R. Rajabi, M. Soylak, B. Karami, *J. Brazil Chem. Soc.* *18*, 1207, 2007.
6. Karatepe, A.; Korkmaz, E.; Soylak, M.; Elçi, L., *J. Hazard. Mater.*, *173*, 433–537, 2010.
7. S. Kalidhasan, M. Ganesh, S. Sricharan, N. Rajesh, *J. Hazard. Mater.* *165*, 886, 2009.
8. P. Bruno, M. Caselli, G. de Gennaro, P. Ielpo, T. Ladisa, C.M. Placentino, *Chromatographia*, *64*, 537, 2006.
9. Ş. Tokaloğlu, F. Gürbüz, *Food Chem.*, *123*, 183-187, 2010
10. T. Shamspur and A. Mostafavi, *J. AOAC Intern.* *92*(4): 1203–1207, 2009.
11. S. Baytak, A. R. Turker, *J. Anal. Chem.* *61*(5): 483–489, 2006.
12. S. Baytak, A.R. Türker, “Determination of lead and nickel in environmental samples by flame atomic absorption spectrometry after column solid-phase extraction on Amborsorb-572 with EDTA”, *J. Hazard. Mater.*, *129*, 130-136, 2006.
13. H. Çiftçi, H. Yalçın, E. Eren, A. Ölçücü, M. Şekerci, *Desalination.*, *256*, 48–53, 2010.
14. C. Duran, V. N. Bulut, A. Gündoğdu, M. Soylak, A. O. Beldüz, F. S. Beris, *Sep. Sci. Technol.*, *44* 335-358, 2009.
15. S. Ozdemir, R. Gul-Guven, E. Kilinc, M. Dogru, S. Erdogan, *Microchim. Acta*, *169*: 79–85, 2010.

16. S. Baytak, F. Zereen, Z. Arslan, "Preconcentration of trace elements from water samples on a minicolumn of yeast (*Yamadazyma spartinae*) immobilized TiO₂ nanoparticles for determination by ICP-AES", *Talanta*, 84, 319-323, 2011.
17. "Ağır Metallerin Bitkiler Üzerine Etkileri" M. Okcu, E. Tozlu, A. M. Kumlay, M. Pehlivan 16 17 (B) –14-26 ISSN:1307-3311, 2009.
18. Cotté-Krief ve ark., 2000, Bu-Olayan ve ark., 2001, Eser ve Volpe, 2002
19. D. Webb, M. M. Gagnon, "Biomarkers of Exposure in Fish Inhabiting the Swan Canning Estuary Western Australia-a preliminary study", *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, p.p.259-269, 2002.
20. U. A. Kamalı, "Samsun-Ordu Kıyı Seridinde Deniz Kirliliğinin İncelenmesi ve Kirlilik Birikiminin Midye Örneğinde Araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 1999.
21. P. S. Rainbow, "Biomonitoring of Heavy Metal Availability in the Marine Environment", *Marine Pollution Bulletin*, Vol.31, pp.183-192, 1995.
22. <http://www.healthy.net> 01.08.2014
23. W. Mertz, "Trace Elements in Human And Animal Nutrition-15th Edition" Volume 1, *Academic Pres*, 1987.
24. "Trace Elements in Human Nutrition And Health" World Health Organization Geneva 1996
25. "Nickel Compounds and Metallic Nickel",
<http://ehp.niehs.nih.gov/roc/tenth/profiles/s118nick.pdf> 10.08.2014
26. Lauri H.J. Lajunen, "Spectrochemical Analysis by Atomik Absorption and Emission", *Royal Society of Chemistry*, 1992.
27. V.Camel, *Spectrochimica Acta Part B* 58, 1177-1233, 2003.
28. B. Feist, B. Mikula, "Preconcentration of heavy metals on activated carbon and their determination in fruits by inductively coupled plasma optical emission spectrometry", *Food Chemistry* 147, 302–306, 2014.
29. R. Dobrowolski, "Magdalena Otto Determination of nickel and cobalt in reference plant materials by carbon slurry sampling GFAAS technique after their simultaneous preconcentration onto modified activated carbon", *Journal of Food Composition and Analysis* 26, 58–65, 2012.

30. M. Ghaedi, H. Tavallali, A. Shokrollahi, M. Zahedi, M. Montazerzohori, M. Soylak, "Flame atomic absorption spectrometric determination of zinc, nickel, iron and lead in different matrixes after solid phase extraction on sodium dodecyl sulfate (SDS)-coated alumina as their bis (2-hydroxyacetophenone)-1, 3-propanediimine chelates", *Journal of Hazardous Materials* 166, 1441–1448, 2009.
31. M. R. Pourjavid, M. Arabieh, S. R. Yousefi, M. R. Jamali, M. Rezaee, M. H. Hosseini, A. A. Sehat, "Study on column SPE with synthesized graphene oxide and FAAS for determination of trace amount of Co(II) and Ni(II) ions in real samples", *Materials Science and Engineering C* 47, 114–122, 2015.
32. B. Zawisza, R. Skorek, G. Stankiewicz, R. Sitko, "Carbon nanotubes as a solid sorbent for the preconcentration of Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn and Pb prior to wavelength-dispersive X-ray fluorescence spectrometry", *Talanta*, 99, 918–923, 2012.
33. A. Karatepe, M. Soylak, L. Elçi, "Determination of Cu, Fe, and Ni in Spices after Preconcentration on Diaion-HP 20 Resin as Their Zincon Complexes", *Clean – Soil, Air, Water*, 39 (5), 502–507, 2011.
34. S. Kocaoba, M. Arsoy, "The use of a white rot fungi (*Pleurotus ostreatus*) immobilized on Amberlite XAD-4 as a new biosorbent in trace metal determination", *Bioresource Technol.*, 102, 17, 8035–8039, 2011.
35. S. Baytak, R. Mert and A. R. Türker, "Determination of Cu(II), Fe(III), Mn(II) and Zn(II) in various samples after preconcentration with *Rhizopus oryzae* loaded natural cellulose (almond bark)", *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 94 10 975-987, 2014.
36. M. Tüzen, K.O. Saygı, C. Usta, M. Soylak, "Pseudomonas aeruginosa immobilized multi walled carbon nanotubes as biosorbent for heavy metal ions.", *Bioresource Technol.*, 99, 1563–1570, 2008.
37. M. Rajfur, A. Kłos, M. Waclawek, "Sorption properties of algae *Spirogyra spartinae* and their use for determination of heavy metal ions concentrations in surface water", *Bioelectrochemistry*, 80, (1) 81-86, 2010.
38. Y. Bakırcıoğlu, D. Bakırcıoğlu, S. Akman, "Biosorption of lead by Filamentous fungal biomass-loaded TiO₂ nanoparticles", *J. Hazard. Mater.*, 178, (1-3) 1015-1020, 2010.
39. S. Baytak, A. R. Türker, B. S. Çevrimli, *J. Sep. Sci.*, 2482-2488 pp., 2005

40. http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Mikroorganizmalar%C4%B1n%20%C3%96zellikleri.pdf] 15.09.2014
41. <http://www.biyolojidunyasi.net/mikro.htm#top> 15.09.2014
42. S. Leone, A. Molinaro, F. Alfieri, V. Cafaro, R. Lanzetta, A. Donato, M. Parrilli, “The biofilm matrix of *Pseudomonas* sp. OX1 grown on phenol is mainly constituted by alginate oligosaccharides”, *Carbohydr Res*, 341: 2456 – 2461, 2006.
43. N. A. Fujishige, N. N. Kapadia, A. M. Hirsch, “A feeling for the microorganism: structure on a small scale. Biofilms on plant roots”, *Bot J Linnean Soc*, 150 (1): 79-88, 2006.
44. L. V. Poulsen, “Microbial biofilm in food processing”, *Lebensm. Wiss. u. Techn.*, 32 (6): 321-326, 1999.
45. A. Telefoncu, “Enzim immobilizasyonu, Enzimoloji”, Biyokimya lisansüstü yaz okulu, Kuşadası, Türkiye, 193-248, Ege Üniversitesi, Basımevi, İzmir. 1999.
46. G. Demirel, “Tutuklanmış *Aspergillus niger* kullanılarak sitrik asit üretimi ve sitrik asit üretimi üzerine çeşitli etkilerin incelenmesi”, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2003.
47. A. L. Lehninger, D. L. Nelson, M. M. Cox, Principles of biochemistry second ed., 468, USA. 1993.
48. A. H. Scragg, Biotechnology for engineers, John Wiley and Sons, 322-337, England, 1988.
49. S. Baytak, “Mn(II), Co(II), Fe(III) ve Cr(III) İyonlarının Mikroorganizma Tutturulmuş Amberlit XAD-4 Kullanılarak Katı Faz Özütleme Tekniği ile Zenginleştirilme Şartlarının Araştırılması ve Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi ile Tayini(Doktora tezi)”, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 2003.

ÖZGEÇMİŞ

Murat ÇETİNKAYA 1976 yılında Afyonkarahisar’da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Afyonkarahisar’da; lise öğrenimini Osmaniye’de tamamladı. 1995’de kazandığı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Amasya Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği Bölümünden 1999 yılında mezun oldu. 2000 yılında Konya İli Kadınhanı İlçesi Şahören İlköğretim Okulunda Müdür Yetkili Sınıf Öğretmeni olarak göreve başladı, 2004 Yılında Mardin İli Dargeçit İlçesi Cumhuriyet İlköğretim Okuluna Atandı. Burada, Okul Müdür Yardımcısı ve Okul Müdürü olarak görev yaptı. 2007 yılında Milli Eğitim Bakanlığının yaptığı sınav sonucu Nevşehir İli Avanos İlçesi Özkonak Hacı Halil Türkkân Anadolu Öğretmen Lisesine kimya öğretmeni olarak atandı. 2012 yılında Nevşehir İli Avanos İlçesi Özkonak Yavuz Selim Anadolu Lisesine okul müdürü olarak atandı ve halen bu görevini sürdürmektedir.

Adres: Özkonak Yavuz Selim Anadolu Lisesi
Avanos - Nevşehir
Telefon: 0 505 489 16 37
e-posta : murat.cetinkaya.nevsehir@gmail.com