

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

***MUCOR PUSILLUS* (MANTAR) İMMOBİLİZE EDİLMİŞ
AMBERLİT XAD-4 ÜZERİNDE Cd(II), Cu(II) VE Pb(II)
İYONLARININ ZENGİNLEŞTİRMESİ VE ALEVLİ AAS
İLE TAYİNİ**

**Tezi Hazırlayan
Ebru ÇAMUROĞLU**

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

**Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Eylül 2014
NEVŞEHİR**

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

***MUCOR PUSILLUS* (MANTAR) İMMOBİLİZE EDİLMİŞ
AMBERLİT XAD-4 ÜZERİNDE Cd(II), Cu(II) VE Pb(II)
İYONLARININ ZENGİNLEŞTİRMESİ VE ALEVLİ AAS
İLE TAYİNİ**

**Tezi Hazırlayan
Ebru ÇAMUROĞLU**

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

**Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Eylül 2014
NEVŞEHİR**

Doç. Dr. Sıtkı BAYTAK danışmanlığında **Ebru ÇAMUROĞLU** tarafından hazırlanan "**Mucor pusillus (Mantar) İmmobilize Edilmiş Amberlit XAD-4 Üzerine Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) İyonlarının Zenginleştirilmesi ve Alevli AAS İle Tayini**" başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

0409/2014

JÜRİ

Başkan :Doç. Dr. Aslıhan KARATEPE

Üye :Doç. Dr. Sıtkı BAYTAK

Üye :Yrd. Doç. Dr. Ramazan MERT

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun. ²⁰¹⁴⁻06.11.2014...tarih ve...42-02... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

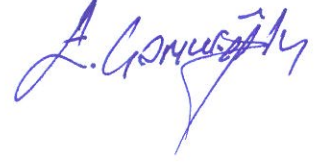
Doç. Dr. Sahlan ÖZTÜRK
Enstitü Müdürü



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.

Ebru ÇAMUROĞLU



TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca biliminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam, tez danışmanım, Sayın Doç. Dr. Sıtkı BAYTAK'a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunar, teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan AİLEM'e ve dostlarıma;

Eğitim Öğretim sürecinde diğer hocalarımdan, Sayın Prof. Dr. Fatma KARİPÇİN'e, Doç. Dr. Aslıhan KARATEPE'ye, Yrd. Doç. Dr. Dilek NARTOP'a, Dr. Soner DÖNMEZ' e, Arş. Gör. Ömer Yunus GÜMÜŞ'e ve Arş. Gör. Hilal İNCEBAY'a teşekkür ederim.

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.

***MUCOR PUSILLUS* (MANTAR) İMMOBİLİZE EDİLMİŞ AMBERLİT XAD-4
ÜZERİNDE Cd(II), Cu(II) VE Pb(II) İYONLARININ ZENGİNLEŞTİRMESİ VE
ALEVLİ AAS İLE TAYİNİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Ebru ÇAMUROĞLU

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

Ekim 2014

ÖZET

Bu çalışmada, *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 üzerinde Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) iyonlarının katı faz özütleme yöntemi ile zenginleştirilme şartları araştırıldı. Metal iyonların tayinleri yüksek çözünürlüklü aevli atomik absorpsiyon spektroskopi cihazı ile yapıldı. Çalışılan metal iyonların geri kazanma verimine örnek çözeltisinin ortamının pH'sının, geri alma çözeltilerinin türü ve derişimlerinin, çözelti akış hızının ve çözelti hacminin etkisi incelendi. Belirlenen en uygun deneysel şartlarda Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) iyonlarının geri kazanma verimi %95 güven seviyesinde sırasıyla, %99±3, %97±2 ve %96±2 olarak, bulundu. Yöntemin kesinliği, çalışılan iyonlar için gözlenebilme sınırı, bilinen miktarda analat 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, Amberlit XAD-4

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Sıtkı BAYTAK

Sayfa Adedi: 82

**INVESTIGATION OF THE PRECONCENTRATION CONDITIONS OF Cd(II),
Cu(II) AND Pb(II) IONS WITH SOLID PHASE EXTRACTION BY USING
FUNGUS (*Mucor pusillus*) IMMOBILIZED ON AMBERLITE XAD-4**

(M. Sc. Thesis)

Ebru ÇAMUROĞLU

**NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

January 2013

ABSTRACT

In this study, preconcentration conditions of Cd(II), Cu(II) and Pb(II) ions for *Mucor pusillus* immobilized on Amberlite XAD-4 by solid phase extraction method were investigated. *Mucor pusillus* was studied as microorganism. The determination of the elements 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 Cd(II), Cu(II) and Pb(II) ions were found as $99\pm 3\%$, $97\pm 2\%$ and $96\pm 2\%$ respectively for *Mucor pusillus* immobilized on Amberlite XAD-4, under the optimum conditions determined. 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, Amberlite XAD-4

Thesis Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sıtkı BAYTAK

Page Number: 82

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	i
TEZ BİLDİRİM SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLOLAR LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	xii
1.BÖLÜM	
GİRİŞ	1
2.BÖLÜM	
GENEL BİLGİLER	4
2.1. Eser Elementlerin Önemi Zenginleştirme Yöntemleri ve Tayini.....	4
2.1.1. Ağır metallerin etkileri.....	5
2.2. Zenginleştirilen Elementlerin Genel Özellikleri	6
2.2.1. Kadmiyum.....	7
2.2.2. Bakır.....	7
2.2.3. Kurşun.....	9
2.3. Ayırma ve Zenginleştirme Yöntemleri.....	10
2.3.1. Sıvı-sıvı özütleme yöntemi ile zenginleştirme.....	13
2.3.2. Elektroanalitik yöntem ile zenginleştirme	13
2.3.3. İyon değiştirme yöntemi ile zenginleştirme.....	13
2.3.4. Uçuculaştırma yöntemi ile zenginleştirme.....	13

2.3.5.	Birlikte çöktürme yöntemi ile zenginleştirme.....	14	
2.3.6.	Flotasyon yöntemi ile zenginleştirme	14	
2.3.7.	Katı-faz özütleme (adsorpsiyon) 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	16	
2.3.8.1.	Adsorpsiyon mekanizması	16	
2.3.8.2.	Adsorpsiyonla yapılan zenginleştirme çalışmaları	17	
3.BÖLÜM			
MİKROORGANİZMALARIN ÖNEMİ, ÖZELLİKLERİ VE TUTUNMA			
TEKNİKLERİ			22
3.1.	Mikroorganizmaların Önemi	22	
3.2.	Mikroorganizmaların Genel Özellikleri	23	
3.2.1	Mantarlar	23	
3.3.	Mikroorganizmaların Besin İhtiyaçları İçin Gerekli Maddeler.....	24	
3.4.	Mikroorganizmaların Metalleri Tutması	25	
3.4.1.	Alglerin metal tutması.....	28	
3.5.	Mikroorganizmaların Bir Destek Üzerinde Tutunma Teknikleri.....	28	
3.5.1.	Yüzeyle tutunma	29	
3.5.2.	Engel arkasında tutunma.....	29	
3.5.3.	Gözenekli yapı içinde hapsetme	30	
4.BÖLÜM			
ATOMİK SPEKTROSKOPİSİ.....			31
4.1.	Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS).....	31	
4.1.1.	Sistemin temel bileşenleri	31	
4.1.2.	Işın kaynakları.....	33	

4.1.3.	Monokramatörler	34	
4.1.4.	Dedektörler	34	
4.1.5.	Atomik absorpsiyon spektrometresinde görülen girişimler	35	
4.1.6.	Alevli AAS'nin diğer spektroskopik tekniklerle karşılaştırılması.....	35	
4.2.	AAS'nin Analitik Performansı ile İlgili Terimler.....	35	
4.2.1.	Duyarlık	36	
4.2.2.	Doğruluk	37	
4.2.3.	Kesinlik	37	
4.2.4.	Gözlenebilme sınırı (LOD).....	37	
4.2.5.	Tayin sınırı (LOQ)	38	
5.BÖLÜM			
DENEYSEL KISIM.....			39
5.1.	Kullanılan Aletler	39	
5.2.	Amberlite XAD-4'ün Deneye Hazırlanması	39	
5.3.	<i>Mucor pusillus</i> 'nın Amberlite XAD-4 Üzerine İmmobilizasyonu.....	40	
5.4.	Adsorpsiyon Kolonunun Hazırlanması	40	
5.5.	Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler.....	41	
5.6.	Zenginleştirme İşlemi ve Hesaplama Yöntemi	42	
5.7.	Zenginleştirme İçin En Uygun Şartların Belirlenmesi	42	
5.7.1.	pH'nın çalışılan elementlerde geri kazanma verimine etkisi	43	
5.7.2.	<i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 (biyoadsorben) miktarının geri kazanma verimine etkisi	44	
5.7.3.	Eluent çözeltisinin geri kazanma verimine etkisi	45	
5.7.4.	Çözelti akış hızının geri kazanma verimine etkisi	45	
5.7.5.	Çözelti hacminin geri kazanım verimine etkisi	46	
5.8.	Yöntemin Kesinliği ve Gözlenebilme Sınırı	47	

5.9.	Kolonların Kullanım Sayıları	48	
5.10.	Doğruluk ve Uygulama	49	
5.10.1.	Standart referans maddenin analize hazırlanması.....	49	
5.10.2.	Domates yaprağı örneklerinde Cd (II), Cu(II) ve Pb(II) tayini.....	50	
5.10.3.	Su örneklerinin analize hazırlanması	51	
6.BÖLÜM			
TARTIŞMA VE SONUÇLAR			53
6.1.	pH'nın Geri Kazanma Verimine Etkisi	53	
6.2.	Katı Faz Miktarının Geri Kazanma Verimine Etkisi.....	54	
6.3.	Eluent Çözeltisinin Geri Kazanma Verimine Etkisi.....	55	
6.4.	Çözelti Akış Hızının Geri Kazanma Verimine Etkisi	55	
6.5.	Örnek Çözeltisi Hacminin Geri Kazanma Verimine Etkisi	55	
6.6.	Tekrarlanabilirlik.....	56	
6.7.	Kalibrasyon Grafikleri ve Gözlenebilme Sınırı (LOD).....	56	
6.8.	Kolonların Tekrar Kullanılabilirliği	57	
6.9.	Uygulama	58	
6.10.	Sonuçların Özetlenmesi.....	58	
KAYNAKLAR			60
ÖZGEÇMİŞ			68

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1.	Temel Endüstrilerden Atılan Metal Türleri	5
Tablo 5.1.	Aletsel parametreler	39
Tablo 5.2.	Eluent türü ve miktarının <i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 kolonunda Cd(II), Cu(II) ve Pb(II)'nin geri kazanma verimine etkisi	45
Tablo 5.3.	<i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş Amberlit XAD-4'de yöntemin kesinliği	48
Tablo 5.4.	<i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 biyoadsorben ile standart referans maddede (SRM-1573a Tomato Leaves) Cd(II), Cu(II) ve Pb(II).....	50
Tablo 5.5.	<i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 biyoadsorbeni ile domates yaprağı örneklerinde Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) tayini	51
Tablo 5.6.	<i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 biyoadsorbeni ile çeşme suyu ve Kızılırmak suyunda Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) tayini (Çözelti hacmi; 250 mL)	52

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Ağır metallerin insan sağlığı üzerindeki etkisi.....	6
Şekil 4.1.	Atomik absorpsiyon spektrometresi blok diyagramı.....	32
Şekil 5.1.	Deneyde kullanılan kolonun şematik görünümü.....	41
Şekil 5.2.	<i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş Amberlit XAD-4’de pH’nın Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) iyonlarının geri kazanma verimine etkisi.....	43
Şekil 5.3.	<i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş Amberlit XAD-4’de biyoadsorben miktarının Cd(II), Cu(II) ve Pb(II)’nin geri kazanma verimine etkisi	44
Şekil 5.4.	<i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş Amberlit XAD-4’de akış hızının Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) nun geri kazanma verimine etkisi	46
Şekil 5.5.	<i>Mucor pusillus</i> immobilize edilmiş Amberlit XAD-4’nin çözelti hacminin Cd(II), Cu(II) ve Pb(II)’nun geri kazanma verimine etkisi	47

SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ

AAS	Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi
OKL	Oyuk Katot Lambası
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ICP-AES	İndüktif Eşleşmiş Plazma- Atomik Absorpsiyon Spektrometre
EBL	Elektrotsuz Boşalım Lambaları

1. BÖLÜM

GİRİŞ

Eser elementler, canlıların hayatlarını devam ettirmesi için oldukça önemlidir. Bu elementlerden bazıları canlılar için olmazsa olmaz mertebesinde olduğu halde bazıları ise ölümcül düzeyde zararlıdır. Bakır canlılar için gerek duyulan bir element olduğu halde, kurşun ve kadmiyum ise zararlıdır [1-2].

Bu elementlerin çevredeki derişimlerinin bilinmesi ve bunların sürekli kontrol edilmesigerekir.

Birçok ortamda bakır, kadmiyum ve kurşun gibi elementlerin derişimleri düşük olduğundan ve ortamdaki diğer türlerin girişim etkilerinden dolayı bu elementlerin alevli AAS gibi bazı analitik yöntemlerle doğrudan tayini mümkün değildir. Alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile eser elementlerin doğrudan tayinini yapabilmek için, örneklerin analizden önce bir ön işleme tabi tutularak eser elementlerin ortamdaki ayrılması ve zenginleştirilmesi gerekmektedir.

Zenginleştirme; Ön işlemler sırasında eser elementlerin bir ortamdan alınarak daha küçük bir hacme toplanması olayıdır. Eser elementlerin zenginleştirmesinde sıvı-sıvı özütme [3], birlikte çöktürme [4], sıvı-sıvı mikroekstraksiyon [5-6], bulutlanma noktası ekstraksiyonu [7-8], flotasyon [9], iyon değiştirme [10], elektroanalitik yöntemler [11-13] ve katı faz özütme (adsorpsiyon) [14-20] gibi yöntemler kullanılmaktadır. Bu zenginleştirme teknikleri arasında son yıllarda en çok kullanılanlardan biri de adsorpsiyona dayalı (katı faz özütme) zenginleştirme tekniği tercih edilmektedir [14-20]. Eser elementlerin adsorpsiyonla zenginleştirilmesinde, keratin [21], aktif karbon [22-24], selüloz [25], bitki kabukları [26-27] gibi doğal polimerler, silika jel [28-31], Diaion-HP-20 [32], Amberlit XAD-4 polimerleri [33], Ambersorb [34] gibi yapay polimerler ve çift duvarlı karbon nano tüpler [35], TiO₂ [36-37], SiO₂ [38] gibi nano boyuttaki taneciklerde katı faz olarak kullanılmıştır.

Katı faz olarak organik sentetik reçineler arasında Amberlit serisi eser elementlerin zenginleştirmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır [33-39]. Amberlit serisinde XAD-2, XAD-4, XAD-7, XAD-8, XAD-16, XAD-1180, XAD-2000 gibi seriler bulunmaktadır. XAD-4 serisi pek çok eser elementlerin zenginleştirmesinde kullanılmıştır [39-41].

Eser elementlerin katı faz özütleme tekniği ile zenginleştirilmesinde tutunmayı artırmak amacıyla ya elementin uygun bir kompleksi oluşturulmakta ya da uygun kompleksleştirici ligant kolon üzerinde önceden tutturulmaktadır [42-45].

Çevre açısından daha az kirlenici ve maliyetinin düşük olmasından dolayı son zamanlarda ligantlar yerine maya, bakteri, mantar ve algler gibi tek hücreli mikroorganizmalar, eser elementleri ortamdan ayırma ve zenginleştirmede yaygın olarak kullanılmaktadır [27-29,36-37].

Katı faz üzerine immobilize edilmiş mikroorganizmaların kullanım sayılarının, serbest halde bulunan hücrelere göre daha fazla olduğu görülmüştür [46]. Bundan dolayı, eser elementlerin tayininde uygun bir katı faz üzerinde mikroorganizmaların immobilize edilerek eser elementlerin zenginleştirme çalışmaları artmaya başlamıştır [42-46].

Bu çalışmada, *Mucor pusillus* (mantar) immobilize edilmiş Amberlit XAD-4, katı faz olarak kolonlarda kullanılmıştır. Mikroorganizmalarda çeşitli fonksiyonel gruplar (-NH₂, -COOH gibi) bulunmaktadır. Bu fonksiyonel guruplardan yararlanarak adsorben olarak kullanılmıştır. Bu adsorben üzerinden Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) elementleri en uygun şartlarda kolondan geçirilmiştir.

Bu çalışmada, örnek çözeltisinin pH'sı, katı faz miktarı, eluent çözeltisinin türü, derişimi ve hacmi, örnek çözeltisi akış hızı ve hacminin çalışılan elementlerin geri kazanma verimine etkisi incelenmiştir.

Ayrıca, çalışılan elementlere bazı diğer iyonların girişim etkisinde incelenmiş ve geliştirilen en uygun şartlarda yöntemin kesinliği ve elementlerin gözlenebilme sınırları belirlenmiştir.

Geliştirilen yöntem ile Nevşehir çeşme suyunda, Kızılırmak nehir suyunda ve domates yaprağı örneklerinde kadmiyum, bakır ve kurşunun tayini yapılmıştır. Geliştirilen yöntemin doğruluğu ise standart referans madde (SRM-1573a Tomato Leaves) kullanılarak araştırılmıştır. Tüm tayin basamaklarında alevli AAS kullanılmıştır.

2. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

2.1. Eser Elementlerin Önemi Zenginleştirme Yöntemleri ve Tayini

19. yüzyılda aletli analiz yöntemlerinin gelişmesiyle beraber, eser elementlerin analizinde kolaylıklar meydana gelmiştir. Bununla birçok eser elementin tayini yapılabilmektedir. Bugün eser element analizleri, analitik kimyanın en önemli çalışma alanlarından biri haline gelmiştir. Bu nedenle hava, su, toprak kirliliği, elektronik sanayi, gıda, ilaç ve çevre kimyası açısından eser elementlerin tayini daha da önem kazanmıştır [42]. İlk eser element analizi 1879 yılında Gutzeit tarafından nitel Marsh deneyi temel alınarak yapılan arsenik tayinidir [42]. Sonraki yıllarda toksik elementlerin üst sınır değerlerini belirlemek için özel analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Son yıllarda gelişen teknoloji ile özellikle reaktör yapımında saf maddelere olan ihtiyaç, bu alanda yapılan çalışmaları hızlandırmıştır [42]. Eser element analizi, organik ve inorganik örneklerdeki mg/L, µg/L veya ng/L seviyedeki derişimlerin tayini olarak tanımlanabilir. 1940 yılına kadar eser element derişimi %10⁻¹-10⁻² olarak bilinirken, 1950'li yıllarda %10⁻³-10⁻⁵, 1960'li yıllarda %10⁻⁶-10⁻⁸ olarak kabul edilmiştir. Günümüzde, %10⁻²-10⁻⁶ derişim aralığı eser, %10⁻⁶'nın altındaki derişimler ultra-eser olarak kabul edilmektedir [42].

Eser elementlerin, uygun analitik yöntemlerde yüksek doğruluk ve güvenilirlikle tayin edilebilmesi gerekmektedir. Ancak birçok ortamda eser element analizinde girişimler söz konusu olabilir. Aynı derişimde bulunan bir elementin farklı ortamlarda farklı büyüklüklerde analitik sinyaller oluşturmasına “ ortam etkisi” denir. Ortam etkisinin olmadığı ortamlar, eser element analizi için en iyi şartlardır [42].

Eser analizde kullanılan aletli yöntemlerde, standart ile örneğin mümkün olduğu kadar birbirine kimyasal ve fiziksel olarak birbirlerine benzetilmesi gerekmektedir. Bu için standartların hazırlanması en sorunlardan biridir. Bu sorunun ortadan kalkması veya en aza indirilmesi için ön işlemlere ihtiyaç vardır. Bu yöntemlere genel olarak zenginleştirme işlemleri denilmektedir [42].

2.1.1. Ağır metallerin etkileri

Ağır metaller; su kaynaklarına, endüstriyel atıklar veya asit yağmurlarının toprağın bileşiminde bulunan ağır metalleri çözmesiyle ve çözünen ağır metallerin ırmak, göl ve yeraltı sularına ulaşmasıyla geçerler. Sulara taşınan ağır metaller aşırı derecede seyrelirler ve kısmen karbonat, sülfat, sülfür olarak katı bileşik oluşturarak su tabanına çöker ve bu bölgede zenginleşirler. Sediment tabakasının absorpsiyon kapasitesi sınırlı olduğundan dolayı da suların ağır metal konsantrasyonu sürekli olarak yükselir. Ağır metallerin ekolojik sistemde yayılmaları dikkate alındığında doğal çevrimlerden daha çok insanın neden olduğu etkiler nedeniyle çevreye yayılımı söz konusu olduğu görülmektedir. Yıllık olarak doğal çevrimler sonucu 7600 ton Cd, 332000 ton Pb atmosfere atılmakta iken, insan faaliyetleri sonucu deşarj edilen Cd (8 kat), Pb (6kat) daha fazladır.

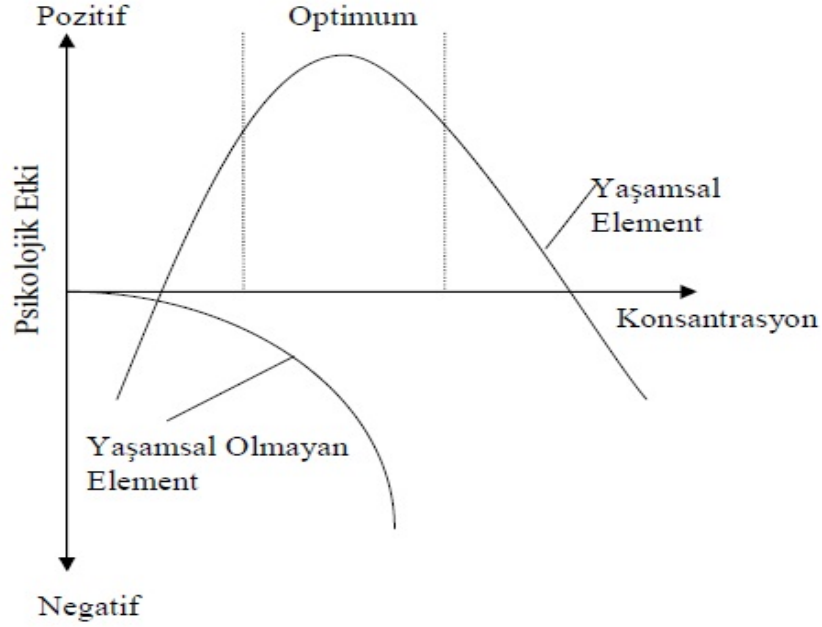
Ağır metallerin çevreye yayınımlarında etken olan en önemli endüstriyel faaliyetlere; çimento üretimi, demir çelik sanayi ve termik santraller örnek olarak verilebilir. Aşağıdaki tabloda temel endüstrilerden atılan metal türleri genel olarak gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Temel Endüstrilerden Atılan Metal Türleri

Endüstri	Cd	Cu	Pb
Kağıt Endüstrisi	-	+	+
Petrokimya	+	-	+
Klor-Alkali Üretimi	+	-	+
Gübre Sanayi	+	+	+
Demir-Çelik Sanayi	+	+	+
Enerji Üretimi (Termik)	+	+	+

Ağır metaller biyolojik proseslere katılma derecelerine göre yaşamsal ve yaşamsal olmayan olarak sınıflandırılmaktadır. Yaşamsal olarak tanımlananların organizmayapısında belirli bir konsantrasyonda bulunmaları gereklidir ve bu metaller biyolojik reaksiyonlara katıldıklarından dolayı düzenli olarak besinler yoluyla alınmaları gereklidir. Örneğin bakır hayvanlarda ve insanlarda, kırmızı kan hücrelerinin, birçok oksidasyon veredüksiyon prosesinin vazgeçilmez parçasıdır [47].

Aşağıdaki ağır metallerin konsantrasyonlarının insan sağlığı üzerindeki etkisini göstermektedir.



Şekil 2.1. Ağır metallerin insan sağlığı üzerindeki etkisi

Şekil 2.1.de görüldüğü gibi bazı ağır metallerin insan vücudunda belli bir miktar bulunması insan sağlığı açısından gereklidir. Bu miktarın altında ve üstündeki konsantrasyonlarda insan sağlığı negatif yönde etkilenmektedir. İnsan sağlığında belirleyici rol oynayan bu elementlerin optimum seviyede bulunması insan sağlığı için önemlidir. Yaşamsal olmayan element olarak adlandırılan elementlerin insan vücudunda bulunması ise, insan sağlığını olumsuz etkiler.

2.2. Zenginleştirilen Elementlerin Genel Özellikleri

Bu bölümde, zenginleştirilen elementlerin doğada bulunuşu, kullanım alanları, canlı organizmalar üzerindeki etkisi, su, bitki ve çevre örneklerindeki derişimleri hakkında genel bilgiler verilmiştir.

2.2.1. Kadmiyum

Kadmiyum çinko üretimine eşlik eden metal olarak üretilmiştir. Çinko üretiminde ortaya çıkıncaya kadar havaya, yiyeceklere ve suya doğal süreçlerle önemli miktarlarda karışmamıştır. Günümüzde kadmiyum endüstriyel olarak nikel/kadmiyum pillerde, gemi sanayinde çeliklerin kaplanması, boya sanayisinde ve elektronik sanayisinde kullanılır.

Kadmiyumun yıllık doğaya yayılım miktarı 25.000 - 30.000 tondur ve bunun 4.000-13.000 tonu insan faaliyetlerine bağlı olarak ortaya çıkar. İnsan yaşamını etkileyen en önemli kadmiyum kaynakları; sigara dumanı, rafine edilmiş yiyecek maddeleri, su boruları, kahve, çay, kömür yakılması, kabuklu deniz ürünleri, tohum aşamasında kullanılan gübreler ve endüstriyel üretim aşamasında oluşan baca gazlarıdır. Kadmiyum önemli enzim ve organ fonksiyonlarında çinkonun yerini alabilmekte ve bu fonksiyonların gerekli biçimde gerçekleşmesini engellemektedir. Zn ve Cd'un vücut içindeki oranları, Cd zehirlenmesi ve Zn yetersizliğiyle arttığından çok önemlidir. Tahılların rafinasyon işlemi bu oranı düşürmekte, dolayısıyla Zn eksikliği ve Cd zehirlenmesi; fazla rafine edilmiş tahıl ve unların tüketimiyle artış göstermektedir. Endüstri bölgelerinde havadaki kadmiyum oranı, kırsal alanlara oranla çok daha yüksektir. Kadmiyum içeriği 0.01 mg/m³ olan havanın 14 günden daha fazla solunması durumunda, kronik akciğer rahatsızlıkları ve böbrek yetmezliği ortaya çıkar [48]. Dünya Sağlık Örgütü sınıflandırmasına göre kadmiyum 1.sınıf kanserojendir [49].

2.2.2. Bakır

İlk kez Mısırlılar tarafından üretilen bakır, M.Ö. 3000 yılından itibaren (Bronz Çağı) Anadolu, Yunanistan ve Hindistan' da mekanik özellikleri alaşımlandırma yolu ile artırılarak kullanılmıştır. Doğada 200'den fazla bakır minareli bulunmakla beraber sadece 20 tanesi bakır cevheri olarak endüstriyel öneme sahiptir. Endüstride bakırın önemli rol oynamasının nedeni çok farklı özelliklere sahip olmasıdır. Bakırın en önemli özelliklerinin arasında yüksek elektrik ve ısı iletkenliği, aşınmaya ve korozyona direnç, çekilebilme ve dövülebilme özellikleri sayılabilir. Ayrıca alaşımları çok çeşitli olup endüstride (otomotiv, basınçlı sistemler, borular, vanalar, elektrik santralleri ve elektrik

- elektronik vb.) değişik amaçlı kullanılmaktadır. Bakırın genel kimyasal özelliklerinden dolayı doğaya yayılımı açısından “Atmofil” (hava sever) grupta yer almasına rağmen, havada bulunan bakır konsantrasyonu üretim yapan sanayibirimine uzaklığına bağlıdır. Bakır “Lithofil” (kaya sever) elementler gibi suda çözünerek geniş bir alana dağılabilir bu nedenle de çevresel açıdan iki grubun arasında değerlendirilir.

Atmosfere yayılan bakırın ancak %1’i biyolojik kullanılabilir iyon halinde kalırken diğer kısım sedimente olarak çökler [48]. Tarımsal kesimlerde havadaki ortalama bakır konsantrasyonu 5-50 ng/m³ iken endüstriyel kirlenmemiş bölgelerdeki deniz suyundaki bakır konsantrasyonu 0.15 µg/L ve tatlı suda ise 1-20 µg/L dir. Doğal suların pH değerine bağlı olarak çözünürlük sınırındaki azalma sonucu dibine çöker ve doğal yeraltı tatlı suların çökelelerinde yaklaşık 16-5000 mg/kg (kuru ağırlık) arasında ve deniz dibinde ortalama 2-740 mg/kg (kuru ağırlık) bakır bulunur. Kirlenmemiş toprakta bakır konsantrasyonu ortalama 30 mg/kg (sınır değeri 2 -250 mg/kg) seviyelerindedir.

Bakır ve bileşikleri çevrede dolayısıyla yüzeysel sularda bulunabilirler. Sudaki bakır, pH ve karbonat konsantrasyonu ve diğer anyonlarla ilgilidir. Musluk suyunda bulunan bakır miktarı ham su kaynağından ve arıtılmış suda bulunan bakır miktarından fazla olabilir. Çünkü bakır tuzları dağıtım sistemlerindeki çamur kontrol ve manganezin yükseltgenmesini katalizlemesi ve depolardaki bakteri büyümelerinin kontrolünde kullanılır [50]. Doğada yaygın bir şekilde bulunması, endüstriyel ve tarımsal alanda, insan ve hayvan hastalıklarının tedavisinde ve günlük yaşamda fazla kullanılan bir metal olması nedeniyle başta insanlar olmak üzere çeşitli hayvanlarda sık sık zehirlenmelere yol açar. Ancak bakır çeşitli canlı türlerinin dokularında iz element olarak bulunması bakımından büyük bir öneme sahiptir [51]. İnsan metabolizmasında bakır esas elementlerden birisidir. Yetişkinlerin günde 2 mg bakıra ihtiyaç duyduğu tahmin edilmektedir. İnsan kanında ise litrede 0.8 mg Cu²⁺ iyonu vardır [52].

Bakırın bitkiler ve canlılar üzerindeki etkisi, kimyasal formuna ve canlının büyüklüğüne göre değişir. Küçük ve basit yapıları canlılar için zehir özelliği gösterirken büyük canlılar için temel yapı bileşenidir. Bu nedenle bakır ve bileşikleri fungusit, biosit, anti bakteriyel madde ve böcek zehiri olarak tarım zararlılarına ve yumuşakçalara karşı yaygın olarak kullanılır.

Örneğin % 1-20 CuSO₄ içeren kireç sütü karışımı “Bordo-Karışımı” olarak bilinir ve üzüm tarımında fungusit olarak kullanılır. Hastanelerde kapı kolları ve elle sıkça temasedilen bölgeler bakır alaşımlarından imal edilen malzemelerden yapılır ve malzemenin antiseptik özelliğinden yararlanılarak mikropların yayılması engellenir. Bakır doğada pek çok sebze ve meyvede bulunur. Örneğin elmada ortalama 0.1-2.3 mg/kg bakır mevcutken, kuru erikte bu değer 3.7- 5.0 mg/kg’a çıkar, ay çekirdeğinde ise 14.3-19 mg/kg bakır bulunur. Anne sütü ortalama 200-400 µg/L bakır içerir ve bebek ağırlığı başına 50 µg bakır alır. Bakır eksikliğine bağlı olarak hayvanlarda ve insanlarda büyümede gecikme, solunum sisteminde enfeksiyonlar, kemik erimesi, anemi, saç ve deride renk kaybı gibi rahatsızlıklar kendini gösterirken, bakır bilezikler eklemlerin kireçlenmesine ve romatizmaya karşı kullanılır [53].

Bakır biriktiği dokuların hücre çekirdeklerine bağlanır. Çekirdek, ihtiva ettiği nükleik asit ve temel proteinler dolayısıyla bakırın yapışmasında seçkin bir yer oluşturur. Hücre protoplazmasındaki bakırın çoğu metalotionein gibi proteinler tarafından toplanır. Bu nedenle mutajenik etkilerinin olduğu sanılmaktadır [54].

2.2.3. Kurşun

Biyosfere insan faaliyetlerine bağlı olarak yayılan kurşun; günümüzden 4000-5000 yıl öncesinde, antik uygarlıklar tarafından gümüş üretimi esnasında yan ürün olarak keşfedilmiş ve tarih boyunca kurşun üretimi, kullanımı giderek artış göstermiştir. Kurşun Roma İmparatorluğunda su borularında, su saklama haznelerinde kullanılmıştır ve günümüz bilim adamları, tarihçileri bu kullanım şeklinin Roma İmparatorluğunun sonunu hazırladığı görüşünü ortaya atmaktadırlar. Kurşun insan faaliyetleri ile ekolojik sisteme en önemli zararı veren ilk metal olma özelliği taşımaktadır. Kurşun atmosfere metal veya bileşik olarak yayıldığından ve her durumda toksik özellik taşıdığından (çalışma ortamında izin verilen sınır 0.1 mg/m³) çevresel kirlilik yaratan en önemli ağır metaldir. 1920’lerde kurşun bileşikleri kurşun tetraetil, Pb(C₂H₅)₄ benzine ilave edilmeye başlanmıştır ve bu kullanım alanı kurşunun ekolojik sisteme yayılımında önemli rol oynar (227.250 ton/yıl ABD). Günümüzde kurşunsuz benzin kullanımı ile atmosfere kurşun yayılımı azalmakla beraber kurşunsuz benzin bileşiminde bulunan

kurşun, birçok birincil metal üretim aşamasından atmosfere kurşun ve bileşiklerinin yayılımını devam ettirmektedir.

Kurşun dağılımını incelendiğinde sanayileşme ve araba kullanımı ile kurşun yayılımı arasındaki ilişki açıkça görülmektedir. Kurşun 20. yy.'da yüksek oranlarda paslanmaya karşı oksit boya hammaddesi olarak kullanılmıştır. Kurşun oksitin hafif tatlımsı bir tadının olması çocukların bu boya maddelerinin döküntülerini yemelerine ve dolayısıyla özellikle kurşuna karşı hassasiyetleri daha fazla olan küçük çocuklarda ciddi problemlere sebep olmuştur. Kurşunlu benzin ve boya maddelerinin yanı sıra yiyecekler ve su da kurşun kaynağı olabilmektedir. Özellikle endüstriyel faaliyetlere ve şehir merkezlerine yakın yerlerde yetişen yiyecekler, tahıllar, baklagiller, bahçe meyveleri ve birçok et ürünü bünyesinde normal seviyelerin üzerinde kurşun bulundurur. Su borularında kullanılan kurşun kaynaklar ve eski evlerde bulunan kurşun tesisatlar da kurşunun suya karışmasına sebep olabilmektedir. Kozmetik malzemelerde kurşun bulundurulur. Diğer taraftan sigara ve böcek ilaçlarında kurşun kaynakları arasında sayılabilirler. İnsan vücudundaki kurşun miktarı tahmini olarak 125-200 mg civarındadır ve normal koşullarda insan vücudu normal fonksiyonlarla günde 1-2 mg kadar kurşunu atabilme yeteneğine sahiptir. Birçok kişinin maruz kaldığı günlük miktar 300-400 mg'ı geçmemektedir. Buna rağmen çok eski iskeletler üzerinde yapılan çalışmalar günümüz insanı kemiklerinde, atalarımızınkinin 500-1000 katı kadar fazla kurşun bulunduğunu göstermektedir [47-49]. Kemiklerde biriken kurşun zamana bağlı olarak (yarılanma ömrü yaklaşık 20 yıl) çözünerek böbreklerde tahribata neden olur. Kurşun, bir nevi nörotoksindir, anormal beyin ve sinir sistemi fonksiyonlarına sebep olmaktadır. Çocuklar üzerinde yapılan araştırmalarda kanda kurşun miktarı arttıkça IQ seviyesinin düştüğü tespit edilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü sınıflandırmasına göre (1995) kurşun 2. sınıf kansorejen gruptadır [55].

2.3. Ayırma ve Zenginleştirme Yöntemleri

Ayırma yöntemleri, genel olarak bir karışımdaki bileşenlerin iki faz arasında dağılım katsayısının farklı olmasından yararlanarak yapılmaktadır. Ayırma üç farklı esasa dayalı olarak yapılır. Bu yöntemler;

- a) Ana bileşen örnekten uzaklaştırılırken, eser bileşenler çözeltide kalır.
- b) Eser bileşenler katı veya çözünmüş örnekten uzaklaştırılırken ana bileşenler çözeltide kalır.
- c) Eser bileşenler, diğer eser bileşenlerden ayrılır.
şeklinde özetlenebilir.

Eser element analizlerinde, ana bileşen ayrılırken beraberinde eser bileşenleri de sürükleyebileceğinden dolayı birinci uygulama pek görülmez. Bunun için, diğer iki uygulama, özellikle ikinci uygulama eser element analizlerinde daha fazla kullanılır.

Atomik absorpsiyon spektroskopi yöntemiyle analiz için eser elementlerin grup olarak ayrılması, yaygın olarak kullanılmaktadır. Fakat eser elementler birbirlerine girişim yapıyorlarsa eser bileşenlerin birbirinden ayrılması da gerekli olur.

Sadece eser analizlerde değil tam bir ayırma istenen çoğu analizlerde maskeleyici kullanılır. Maskeleyici, bileşen ortadan kaldırılmadan uygun bir reaktif ilavesiyle girişim etkisi olan bileşenin etkisinin yok edilmesidir. Maskeleyici reaktif, çözeltideki bir bileşen ile seçici olarak tepkimeye giren ve böylece bu bileşenin analizi bozmasını önleyen kompleksleştirici bir maddedir.

Ayırma ve zenginleştirme yöntemleri ile tayin basamağında sağlanan iyileştirmeler şunlardır:

- a) Eser element derişimi artırılarak yöntemin tayin kapasitesi artırılır.
- b) Eser elementler uygun ortama alındığı için, örnek ortamından gelebilecek girişimler giderilir.
- c) Küçük örnek miktarları ile çalışılabildiğinden örneğin homojen olmayışından gelebilecek hatalar yok edilir.
- d) Ayırma işlemi ile eser elementler bilinen ortam içine alındığından, standartlar ile örnek ortamını benzetmek kolaylaşır.
- e) Bozucu etki gösteren ortam, uygun ortam ile yer değiştirdiği için zemin girişimleri azalır.

Zenginleştirme yöntemlerinin değerlendirmesinde iki ölçüt vardır. Bunlardan ilki, istenilen eser elementin ortamdan ayrılmasının ölçüsü olan geri kazanma verimidir R ile ifade edilir. Geri kazanma verimi aşağıdaki formül ile hesaplanır.

$$\%R = (Q / Q_o) \times 100$$

Burada;

Q_o: Örnekte bulunan analiz elementinin miktarı,

Q: Zenginleştirme sonrası ikinci ortamdaki analiz elementinin miktarıdır.

İkinci ise, zenginleştirme katsayısıdır. K_{T/M} ile ifade edilir. Zenginleştirme katsayısı aşağıdaki formül ile hesaplanır.

$$K_{T/M} = (C_T / C_M) / (Q_T / Q_M)$$

Burada;

M: Matriks,

T: Söz konusu eser elementi gösteren indisler,

Q_T ve Q_M: Örnekteki T ve M'nin derişimi,

C_T ve C_M: Zenginleştirmeden sonra T ve M'nin derişimidir.

İdeal bir ayırmada R%100 olmalıdır. Fakat uygulamada, %99'dan daha büyük geri kazanma verimine ulaşılmadığı görülmektedir. Düşük derişimlerde çalışıldığında, %90 veya %95'lik geri kazanma verimleri yeterli olarak kabul edilmektedir.

Eser elementlerin ayrılması ve zenginleştirilmesi sıvı-sıvı özütleme, elektroliz, iyon değiştirme, uçuculaştırma, birlikte çöktürme, bulutlanma noktası tayini, mikroenjeksiyon yöntemi, flotasyon ve katı faz özütleme gibi farklı yöntemlerle yapılabilir. Bu yöntemlerle ilgili temel çalışma prensibi ve yapılan çalışmalar aşağıda kısaca özetlenmiştir.

2.3.1. Sıvı-sıvı özütleme yöntemi ile zenginleştirme

Sıvı-sıvı özütleme ile zenginleştirme yönteminde, genellikle bir faz su, diğer faz ise uygun bir organik çözücüdür. Sulu fazdaki eser bileşenler organik faza genellikle şelatları veya değişik iyonik kompleksleri halinde alınır.

Sıvı-sıvı özütleme yönteminde iki faz arasındaki dağılım katsayısına, metal iyonunun türü, pH, sulu fazdaki yan tepkimeler, ligant, çözücü türü ve sıcaklık etki eder. Seçimlilik bu değişkenlerden yararlanarak elde edilir.

Sıvı-sıvı özütleme yöntemi, eser analizde kullanılan zenginleştirme yöntemleri içinde basit, geniş ve hızlı uygulanabilirliğinden dolayı oldukça önemlidir [42].

2.3.2. Elektroanalitik yöntem ile zenginleştirme

Çeşitli elektrolit çözeltilerden eser elementleri, uygun şartlar sağlanarak katı bir çalışma elektrodu üzerine topladıktan sonra küçük bir hacim içerisine sıyırmak mümkündür. Elektrolit ve örneğin bileşimi, elektrot türü ve şekli, elektroliz hücresi ve diğer bazı deneysel parametreler analiz edilecek elementin elektrolizle toplanmasına etki eder. Bu tür çalışmalar genellikle potansiyel kontrol edilerek yapılır [42].

2.3.3. İyon değiştirme yöntemi ile zenginleştirme

İyon değiştirme yöntemi, bir katı maddenin yapısında bulunan iyonların, temasta olduğu çözelti içerisinde aynı cinsten yüklü başka iyonlarla yer değiştirerek dengeye gelmesi prensibine dayanır. Eser elementlerin bu yolla zenginleştirilmesinde iyon değiştirici reçineler kullanılmaktadır [42].

2.3.4. Uçuculaştırma yöntemi ile zenginleştirme

Uçuculaştırma yöntemi, en eski analitik zenginleştirme yöntemlerindedir. Eser elementlerin bulunduğu çözücü, herhangi bir şekilde ortamdan uzaklaştırılarak elementin daha küçük hacimde deriştirilmesi sağlanır. Bu yöntem kolaydır ve kimyasal reaktif eklenmediği için kirlenme söz konusu değildir. Ancak, kolay buharlaşabilen

element veya bileşikler de çözültiden uzaklaşabilmektedir. Ayrıca, analiz elementi bulunduğu kabın yüzeyine adsorplanabilmektedir. Örnekteki toplam katı maddenin çok olduğu hallerde çökelek oluşması eser element tuzlarının da çökmesine neden olabilir. Çalışma süresi uzun olduğu için, örneğin laboratuvar ortamından kirlenme riski olabilir. Eser inorganik maddelerin zenginleştirilmesi sırasında ortamdaki diğer bileşenler de zenginleştiğinden girişim artabilir. Bu yöntem ortam çözücü ile eser element arasındaki uçuculuk farkı büyük olduğu durumlarda uygulanır [42].

2.3.5. Birlikte çöktürme yöntemi ile zenginleştirme

Birlikte çöktürme yöntemi, organik veya inorganik karakterli, büyük yüzey alanlı çökelek oluşturularak, eser elementin bu çökelek yüzeyinde adsorplanmasıdır. Kullanılan inorganik çökelekler çoğunlukla şelat kompleksleridir. Örnek çözültisine, santrifüj veya süzme ile kolaylıkla ayrılabilir miktarda çökelek oluşmasını sağlamak için yeteri kadar çöktürücü reaktif eklenir. Genellikle 50-200 mL'lik örnek çözültisi için 2-5 mg taşıyıcı kullanılır [42].

2.3.6. Flotasyon yöntemi ile zenginleştirme

Flotasyon yöntemi, sulu çözültide bulunan iyonları, gaz kabarcıkları yardımı ile çözelti yüzeyine çıkartma olayıdır. Hidrofobik maddeler gaz kabarcıklarına tutunarak yüzeğe çıkarlar. Hidrofilik maddeler ise yüzey aktif maddelere tutturulur sonra da flotasyon tekniği uygulanır. Bu yöntem daha çok maden minerallerinin deriştirilmesinde sanayide kullanılmaktadır [42].

2.3.7. Katı-faz özütleme (adsorpsiyon) yöntemi ile zenginleştirme

Adsorpsiyon, gaz, sıvı veya başka bir çözelti içerisinde bulunan analitin katı bir faz üzerinde toplanması olayına denir. Son zamanlarda katı-faz özütleme yöntemi olarak da adlandırılmaktadır. Tutunan maddeye adsorplanan, katı maddeye de katı faz denir. Adsorpsiyon olayı fiziksel ve kimyasal olmak üzere iki kısma ayrılır. Fiziksel adsorpsiyon, adsorplanan ile katı faz arasında Van der Waals kuvvetleri, dipol-dipol etkileşmesi ve hidrojen bağları ile olur. Kimyasal adsorpsiyon ise, kimyasal bağa dayanan bir olaydır.

Zenginleştirme yöntemleri arasında adsorpsiyon yöntemi, kolay, hızlı, ucuz ve yüksek zenginleştirme faktörü elde edilebilmesinden dolayı pek çok elementin zenginleştirilmesinde kullanılmıştır. Katı yüzeyde tutunan metal iyonları küçük hacimli geri alma çözeltisi kullanılarak bir başka ortama alınabilir. Bu yöntemde, geri alma çözeltisi olarak inorganik çözücüler kullanıldığı gibi sıvı organik çözücüler de kullanılabilir [42].

2.3.7.1. Batch tekniği

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

2.3.7.2. Kolon tekniği

Katı faz özütlemeye 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. Örnek çözeltisi kolondan geçirilmeden önce, yaklaşık 5-10 mL örnek çözücüsüne benzer bir çözeltilinin geçirilmesi ile şartlandırılır. Hazırlanan kolondan örnek çözeltisi geçirilerek eser elementlerin kolonda tutunması sağlanır. Eser elementi içeren çözeltilinin pH ayarlanması, uygun şelatlaştırıcılarının eklenmesi vb. gibi gerekli ön işlemleri yapıldıktan sonra kolondan geçirilerek metal iyonlarının adsorban üzerinde tutunmaları sağlanır. Adsorban üzerinde tutunmuş istenmeyen maddeler varsa uygun bir çözeltili kullanılarak yıkanarak uzaklaştırılır. Burada kullanılan çözücü, analiti etkilemeden sadece matriks bileşenlerini önemli ölçüde adsorbe edebilmelidir.

2.3.8. Yapısal özelliklerin adsorpsiyona etkisi

Katı faz ile adsorplanan maddelerin fiziksel ve kimyasal özellikleri adsorpsiyon olayını etkiler. Katı faz olarak kullanılan maddeler polar (silika jel, cam, alümina, zeolitler) veya apolar (aktif karbon, parafin, plastikler, grafit ve bazı yapay polimerler) olabilir. Polar katı fazlarda elektriksel kuvvetler etkili olduğu halde apolar katı fazlarda dispersiyon kuvvetleri etkili olmaktadır.

Reçinelerin, adsorpsiyon kapasiteleri uğradıkları ön işlemlere (aktifleştirme işlemi gibi) bağlıdır. Adsorplanan madde miktarı, adsorplayıcının yüzey alanına bağlı olarak artar. Bundan dolayı tanecik büyüklüğü önemlidir. Ayrıca, katı fazın gözenekli olması adsorpsiyon olayını önemli bir şekilde etkiler. Katı faz içinde bulunan safsızlıklar, onun fiziksel ve kimyasal özelliklerini önemli ölçüde değiştireceğinden, adsorplanan madde miktarını da değiştirir.

Adsorpsiyon olayında, adsorplananın elektiriksel yükü, polar karakteri, iyon veya molekül çapları önemli etkenler arasında sayılır. Adsorplanan maddenin içinde bulunduğu çözücünün özellikleri, çözücü-adsorplanan madde etkileşimleri adsorpsiyon verimini etkileyen diğer önemli faktörlerdendir [42].

2.3.8.1. Adsorpsiyon mekanizması

Adsorpsiyon olayı, iki farklı fazın ara yüzeyi arasındaki kuvvetlerin denkleşmemiş olmasından kaynaklanmaktadır. Adsorplanma sırasında ara yüzeyde bir birikme meydana gelir. Derişim arttığı zaman pozitif, azaldığı zaman ise negatif adsorpsiyon oluşur.

Çözünmüş maddenin adsorpsiyonu iki şekilde gerçekleşir;

- a) Yüzey gerilimindeki değişiklikten meydana gelen adsorpsiyon.
- b) Elektrostatik kuvvetlerden ileri gelen adsorpsiyon.

Bir çözültide bulunan maddenin, katı faz yüzeyinde ve sıvının içindeki dağılımı birbirinden farklıdır. Gibbs'e göre, yüzey gerilimini azaltan maddelerin ara yüzeydeki derişimleri sıvı içindekinden daha fazla; yüzey gerilimini artıran maddelerin ise daha azdır. İlk durumda adsorpsiyon pozitif, ikinci durumda ise negatiftir [42].

Kimyasal yönden birbirinden farklı olan iki faz birbiriyle temas haline getirildikleri zaman, bu iki faz arasında bir elektriksel potansiyel farkı oluşur. Bundan dolayı, ara yüzeyin bir tarafı pozitif, diğer tarafı ise negatif yüklenir. Fazlardan biri sıvı diğeri katı ise, bu durumda çift tabaka meydana gelebilir. Çözültide bulunan iyonlarla katı yüzey arasındaki çekim kuvveti çift tabakanın özel yapısını tayin eder. Buna göre birçok katı, su ile temas ettiğinde bir elektrik yükü kazanır. Su-silis temasında su (+), silis ise (-) yükle yüklenir. Yüzeyde oluşan elektriksel yükten dolayı silis, suda bulunan zıt yüklü iyonları adsorplar [42].

2.3.8.2. Adsorpsiyonla yapılan zenginleştirme çalışmaları

Son yıllarda doğal ve sentetik adsorbenlerden aktif karbon, karbon nano tüpler, kil mineralleri (pomza taşı gibi, sepiolit, zeolit gibi), selüloz, silika jel, ambersorp, Diaion-HP 20, kromosorp, Fe₃O₄ nano partükül, TiO₂ nano partükülü ve amberlit XAD-4 polimerleri adsorpsiyonla zenginleştirme yönteminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda verilmiştir:

Karadaş ve Kara, yaptığı çalışmada, 8 hidroksi-2-kinolin karboksi aldehiti Amberlit XAD-4 üzerine immobilize ederek Cd, Co, Cu, Pb, Mn ve Ni elementlerinin zenginleştirme şartlarını araştırmışlardır. Bu çalışmada, 1 M HNO₃ eluent kullanarak çalışılan elementlerin geri kazanmasında verimi % 90'ın üzerinde elde etmişlerdir. Tayin sınırları 0,14 µg/L ile 2,92 µg/L arasında sonuçlar elde etmişlerdir. Zenginleştirme faktörü ise 10 mL çözelti kullanıldığında 22,3 ile 27,6 değiştiği görülmektedir. Yöntem içme suyu, nehir suyu ve deniz suyuna uygulayarak %10'un altında bağıl hata ile sonuç almışlardır [39].

Karatepe ve arkadaşları, Diaion-HP 20 polimerini adsorben olarak kullanarak Cu, Fe ve Ni elementlerinin zenginleştirme şartlarını araştırmışlardır. Bu çalışmada çeşitli parametreler incelenmiş ve elementlerin ölçümleri alevli AAS ile yapılmıştır [56].

Gua ve arkadaşları, yaptığı çalışmada, 2-aminoasetiltiyofenolu Amberlit XAD-2 polimerine emdirilerek Cd, Hg, Ag, Ni, Co, Cu ve Zn elementlerinin zenginleştirmesinde adsorbent olarak kullanmışlardır. Bu çalışmada çözeltinin pH'sının adsorban miktarının ve çözelti akış hızının etkisi gibi parametreler incelenmiştir. Geliştirilen yöntem çeşme suyu, nehir suyu ve bazı sediment örneklerine uygulanmıştır. Elementlerin analizleri ICP-AES ile yapılmıştır. Çalışılan elementleri tayin sınırları sırasıyla, 0,10; 0,23; 0,41; 0,13; 0,25; 0,39; 0,58 µg/L bulunmuştur. Gerçek örneklerde sonuçlar %10 altında bağıl hata ile bulunmuştu [57].

Jalbani ve Soylak, bir çalışmalarında Fe₃O₄ nano partükülü adsorben olarak kullanmışlardır. Bu adsorben üzerinde Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının zenginleştirmesinde kullanmışlardır. Geliştirdikleri yöntemi su ve toprak örneklerine uygulamışlardır. Yöntemin tayin sınırı sırasıyla 0,15 ve 0,74 µg/L olarak bulunmuştur. Metallerin analizleri alevli AAS ile tayin edilmiştir [58].

Zawisza ve arkadaşları, çok duvarlı karbon nanotüpü adsorben olarak kullanarak Cr(III), Mn(II), Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) and Pb(II) elementlerinin önderiştirmesinde kullanmışlardır. Çalışmada adsorben miktar, 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 uygulamıştır [59].

N. Pourreza ve arkadaşları nano TiO₂'yi 2-merkaptobenzothiazol ile modifiye edilerek Cd(II), Cu(II) and Pb(II) iyonlarının zenginleştirmesinde adsorben olarak kullanmışlardır. Çalışmada adsorban miktarı, çözeltinin pH'sı, çözelti adsorban temas süresi ve akış hızı gibi parametrelerin metal iyonların geri kazanım üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışılan metal iyonları için kalibrasyon eğrileri sırasıyla 0.2–25.0, 0.2–20.0 ve 3.0–70.0 ng mL⁻¹ elde edilmiştir. En düşük tayin sınırları ise sırasıyla 0.12, 0.15

ve 1.38 ng mL^{-1} elde edilmiştir. Geliştirilen yöntem su ve cevher örneklerine uygulanmıştır. Analatların analizi alevli AAS ile yapılmıştır [60].

Zhang ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada Cr(III), Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonların zenginleştirme şartları araştırmışlardır. Bu çalışmada rhodamin 6G'u aktifleştirilmiş karbon ile modifiye edilerek katı faz olarak kullanmışlardır. Cr(III), Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) pH 4'de ve eluent olarak 1 M HCl kullanarak Cr(III), Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) kantitatif olarak geri kazanılmıştır. Metal iyonların adsorpsiyon kapasiteleri ise sırasıyla 37.8, 47.8, 56.5 ve 41.7 mg g^{-1} olarak bulunmuştur. Analatların en düşük tayin sınırı (3σ) $0,35 \text{ ng mL}^{-1}$ 'nin altında ve bağıl standart sapma ise ($n=11$) % 3.5 bulunmuştur. Geliştirilen yöntem ile su ve biyolojik örneklerde çalışılan elementlerin analizine uygulanmıştır. Analizlerde indüktif eşleşmiş plazma atomik emisyon spektroskopisi (ICP- AES) kullanılmıştır [61].

Yapılan araştırmalarda ağırlıklı olarak eser elementler, ya katı faz üzerine şelatlaştırıcı reaktif immobilize edilmiş ya da metal iyonları komplekslerine dönüştürüldükten sonra katı faz yüzeyinde zenginleştirilmişlerdir.

Kompleksleştirici reaktifler kullanılarak yapılan zenginleştirme çalışmalarından bazıları şunlardır:

Baytak ve Türker, Amborsorb-572'yı katı faz olarak kullanarak Pb(II) ve Ni(II)'in zenginleştirme şartlarını araştırmışlardır. Pb(II) ve Ni(II) için (EDTA) ile kompleks oluşturarak geri kazanma verimini artırmışlardır. Geliştirdikleri yöntemi su ve sebze örneklerine uygulamışlardır [62].

Baytak ve arkadaşları, Fe(III) ve Cr(III)'ü 2-Piridin karbaldehit tiyosemikarbazonu ile komplekslerine dönüştürülerek Amberlit XAD-4 polimeri üzerinde zenginleştirme şartlarını araştırmışlardır. Geliştirdikleri yöntemi bazı sulara ve referans maddelere uygulamışlardır [63].

Şelatlaştırıcı reaktif immobilize edilmiş katı fazda yapılan zenginleştirme çalışmalarının bazıları aşağıdaki gibidir:

Baytak ve Arslan yaptığı bir çalışmada, difenilkarbazonu TiO_2 üzerine immobilize ederek eser elementlerin zenginleştirmesinde katı faz olarak kullanmışlardır. Bu çalışmada önce SDS, nano TiO_2 üzerine emdirilmiş daha sonra da DPC katı faz üzerine immobilize edilmiştir. Geliştirilen yöntem ile su ve bazı biyolojik örneklerde metal analizi yapılmıştır. Analizlerde ICP-AES kullanılmıştır [45].

Kimyasal şelatlaştırıcılar yerine mikroorganizmaları bir destek katı madde üzerine immobilize edilerek yapılan çalışmalardan bir kısmını aşağıdaki gibi sıralanabilir.

Kocaoba ve Arsoy, yaptığı çalışmada, *Pleurotus ostreatus* Amberlite XAD-4 polimeri üzerine immobilize ederek Cr(III), Cd(II) ve Cu(II) iyonlarının zenginleştirmesinde biyokütle olarak kullanmışlardır. Bu çalışmada 200 mg adsorben kullanılarak 10 ml 1 M HNO_3 eluent ile %95-100 arasında geri kazanım sağlanmıştır. Geliştirilen yöntem çeşme suyuna uygulanmış ve %94 geri kazanım sağlanmıştır [64].

Baytak ve arkadaşları, doğal selüloz (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 olarak kullanılarak 0,3 g biyoadsorbent üzerinde %90'nın üzerinde analitler geri kazanılmıştır. Geliştirilen yöntem, su, balık ve sebze örneklerine uygulanmıştır. Sonuçlar %10 altında bağıl hata ile bulunmuştur. Metal iyonların analizleri alevli AAS ile yapılmıştır [27].

Baytak ve arkadaşları, nano TiO_2 'nin üzerine *Yamadazyma spartinae* (maya) immobilize ederek 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 yöntem su örneklerine ve standart referans su örneklerine uygulanmıştır. Analizlerde ICP-AES kullanmışlardır [36].

Tüzen ve arkadaşları, çok duvarlı karbon nano tüp üzerine *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmasını immobilize ederek bazı ağır metallerin zenginleştirmesinde biyoadsorben olarak kullanmışlardır [65].

Rajfur ve arkadaşlar, *Spirogyra spartinae* (alga) kullanarak yeryüzü sularında metal iyonlarının tayininde kullanmışlardır [66]. Bakırcıoğlu ve arkadaşları, *Filamentous fungal* biyokütlesini TiO_2 nanopartiküllerinin üzerine immobilize ederek kurşun iyonlarının zenginleştirme şartları araştırılmıştır. Çalışmada akışa enjeksiyonlu alevli AAS kullanılmıştır [37].

Baytak ve arkadaşları, *Aspergillus niger*'i silika jel üzerine tutturularak Pb(II), Fe(III) ve Ni(II)'nin zenginleştirme şartlarını araştırmışlar ve geliştirdikleri yöntemi çeşitli çevre örneklerinde çalışılan elementlerin tayini için kullanmışlardır [19].

Baytak ve arkadaşları, *Agrobacterium tumefaciens*'i Amberlit XAD-4 polimeri üzerine immobilize ederek Mn(II), Co(II), Fe(II) ve Cr(III)'ün zenginleştirme şartlarını araştırmışlar ve geliştirdikleri yöntemi, standart referans maddelere, çeşitli su ve gıda örneklerinde bu elementler tayin etmişlerdir [67].

Baytak ve arkadaşları, üç farklı çalışmada *Penicillium digitatum* (mantar)'ı pomza taşı üzerine immobilize ederek Cu(II), Zn(II), Pb(II), Co(II), Fe(III), Ni(II) Cr(III), Cd(II) ve Mn(II) iyonlarının zenginleştirme şartları araştırılmıştır. Geliştirilen yöntem standart referans maddelere, çeşitli su, bitki ve balık örneklerinde çalışılan elementlerin analizi yapılmıştır. Sonuçlar %10 bağıl hatanın altında bulunmuştur. Çalışılan elementlerin analizinde alevli AAS kullanılmıştır [68-70].

3. BÖLÜM

MİKROORGANİZMALARIN ÖNEMİ, ÖZELLİKLERİ VE TUTUNMA TEKNİKLERİ

3.1. Mikroorganizmaların Önemi

Mikroorganizmaların çok geniş bir sahada kullanıldığı bilinmektedir. Mikroorganizmalar, tarım, sanayi, besin, çevre sağlığı, insan sağlığı, veterinerlik ve uzay gibi pek çok alanda kullanılmaktadır [71-72].

Toprağın verimliliği mikroorganizmalar ile doğrudan ilişkilidir. Mikroorganizmalar, toprağın diplerinde yok denecek kadar az miktarda bulunmaktadır. Bu nedenle derinlerden çıkarılan toprak katmanları verimli değildir. Bu topraklar ancak azobakterileri sayesinde verimli hale getirilirler [71-72].

Mikroorganizmaların yardımı ile birbirinden farklı yollarla besinler elde edilebilir. Örneğin; alkollü içecekler, organik asitler, bazı cins vitaminler ve hormonlar mikroorganizmaların yardımı ile elde edilmektedir. Dokuma sanayinde kumaşların çürümesini önlemede, atık suların temizlenmesi ve arıtılmasında da bazı bakterilerin kullanıldığı bilinmektedir [71-72].

Süt ve süt ürünlerinde, konservelerde unlu mamüllerde hamurun şişmesi gibi özellikler için mayalar kullanılmaktadır.

Çevre sağlığı açısından içme suyunun saflaştırılması, kötü koku ve tatdan temizlenmesi gibi özellikler mikroorganizmalar sayesinde gerçekleşmektedir [71-72].

İnsan ve hayvan sağlığını olumlu yönde etkilediği gibi, olumsuz yönde etkileyen mikroorganizmalar da vardır. Bu mikroorganizmaların zararlarının en aza indirilmesi için tanınması ve gerekli önlemin alınması gerekir [71-72].

Bir kısım mikroorganizmalar, önceki bölümlerde ayrıntı olarak anlatıldığı gibi hem canlı hem de ölü olarak çeşitli katı fazlar üzerinde tutturularak, eser elementlerin adsorpsiyonla zenginleştirilmesinde kullanılmaktadır.

3.2. Mikroorganizmaların Genel Özellikleri

Mikroorganizmalar, hücre duvarı ve bir çekirdeğe sahip tek hücreli yapılardır. Mikroorganizmalar, mayalar, bakteriler ve mantarlar olmak üzere üç ana grupta toplanabilir. Bu çalışmada mantar kullanıldığı için sadece mantarlar hakkında bilgi verilecektir.

3.2.1 Mantarlar

Mantarlar, genellikle çok çekirdekli canlılardır. Fotosentetik olmayan ökaryotik mikroorganizmalar olup doğada yaygın olarak bulunur. Bunların ökaryotik çekirdekleri, duvarlı ve çoğu zaman bölmeli bir yapı içindedir. Vücutları bir hücreli veya çok hücreli iplikimsidir. Fakat bu hücreler, organ yapmak üzere ayrışmaz. Mantarlar hareket etmez, besinleri içine alarak sindirir. Besinin çok olduğu bir ortamda yaşar. Eşeyli ve eşeysiz olmak üzere iki şekilde çoğalır. Genelde zararsız olmakla beraber çok az miktarda mantar türü hastalıklara neden olur. Bunları yapı olarak küfler ve mantarlar diye kabaca iki gruba ayırabiliriz. Ancak bakteri görünümünde tek hücreli mantarlar da bulunmaktadır [42,71,72].

Mantarları kendi besinini yapma yeteneğine sahip olan ve klorofile sahip algler ve klorofili olmayan mantarlar olarak ikiye ayırabiliriz. Mantarlar da kendi aralarında gerçek ve yalancı olmak üzere iki alt guruba ayrılırlar:

Birinci grup mantarlar çok hücreli iplikçikler oluşturarak çoğalırlar. Küfler bu guruba girmektedir [42,71,72].

İkinci grup mantarlar ise, tek hücreli olarak çoğalır. Bunlar diğer bir yönüyle bakterilere benzer.

3.3. Mikroorganizmaların Besin İhtiyaçları İçin Gerekli Maddeler

Mikroorganizmaların laboratuvar koşullarında üretilmeleri, saf olarak elde edilmeleri, çeşitli özelliklerinin incelenmesi, biyolojik ve metabolik ürünlerin elde edilebilmesi için çeşitli besleyici ortamlar kullanılmaktadır. Mikroorganizmalar katı besin parçacıklarını diğer canlılar gibi içine alıp sindiremezler. Bunun için, ortamda bulunan besin maddelerini hücrelerinin dışında parçalayıp sindirecek hale getirdikten sonra hücre içine alabilirler. Bu şekildeki beslenmeye holofitik beslenme denir [42,71,72].

Biçimlerine göre besiyerleri; katı, sıvı, yarı katı ve yarı sıvı besiyeri olarak sınıflandırılabilir. Bu besiyerlerinin içerikleri genel olarak şu şekilde sıralanabilir:

- a) Hidrojen içeren maddeler
- b) Karbon ve azot içeren maddeler
- c) Mineraller
- d) Vitaminler
- e) Aminoasit içeren maddeler
- f) Oksijen ve su

Mikroorganizmaların çoğalmasında sıcaklık ve pH'nın etkisi de oldukça önemlidir. Bu şartlar uygun hale getirilmediği zaman mikroorganizmanın büyümesi ve çoğalması sınırlı kalmaktadır. Hatta bu çoğalma duraklama noktasına da gelebilir.

Mikroorganizmaların besiyerinin H⁺ derişimi enzimlerin aktiviteleri için önemli bir faktördür. Bazı bazik ortamlara karşı ilgi duyan bakteriler pH 8-10 arasında büyürken, asitli ortamı seven bakteriler ise pH 4-6 arasında daha iyi ürerler. Bazı maya ve mantarlar asidik ortamda, toprak bakterileri de bazik ortamda daha iyi çoğalırlar. K₂HPO₄-KH₂PO₄, Na₂HPO₄⁻, NaH₂PO₄ tuzları kullanılarak ortamın pH'sının değişmemesi sağlanır.

Mikroorganizmalardaki enzimlerin en iyi aktivite gösterdikleri uygun sıcaklıklar vardır. En iyi sıcaklık değeri bakterilerin buldukları ortama göre değişirken, mayalar ve mantarlar için en uygun sıcaklık 30 °C'dur. Toprak ve denizde yaşayan bakterilerin en

uygun sıcaklıkları ise $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ ile $+15\text{ }^{\circ}\text{C}$ arasında değişmektedir. İnsanlarda ve hayvanlarda bu sıcaklık $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ iken, sıcak kükürtlü sularda, sütte ve çöplüklerde yaşayan bakteriler için bu sıcaklık $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'dur [42, 71].

3.4. Mikroorganizmaların Metalleri Tutması

Bakteriler, algler, mantarlar ve mayalar, hem canlı iken hem de ölü iken adsorpsiyonla metalleri tutma özelliğine sahiptir. Bununla beraber, bu canlıların salgıladığı metabolit, polisakkarit gibi ürünler ile mikroorganizmaların hücre duvarları da aynı görevi yapmaktadır [42,71,72].

Mikroorganizmaların bu özelliği, sanayide atık su arıtımında ve altın gibi değerli metallerin geri kazanılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Mikroorganizmaların büyümeleri için bakır, çinko ve mangan gibi bazı düşük derişimli metallere ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak yüksek derişimlerde bu metaller toksik etki göstermektedir. Bu yönü ile ölü mikroorganizmaların ya da bunların salgılayacağı ürünlerin kullanılması halinde bu elementler toksik etki göstermezler [42,71,72].

Canlı mikroorganizmaların taşıma, hücre dışı kompleks oluşumu, çöktürme gibi metalleri tutma mekanizması çok değişik olduğu için canlı mikroorganizmaların kullanma açısından pek çok yararı olabilir.

Mikroorganizmaların metalleri biyosorpsiyon yoluyla tutması değişik mekanizmalarla olur. Bunlardan bazıları, metallerin hücre duvarına adsorpsiyonla tutunması ve hücrenin salgıladığı metabolitlerle çöktürme gibi mekanizmalarla olur.

Biyosorpsiyon, metallerin mikroorganizmalara tutunması olayı olarak tanımlanır:

Hem canlı hem de ölü mikroorganizmaların metal tutma özelliği birbirine benzese de mekanizmaları birbirinden farklıdır [42,71,72].

Mikroorganizmaların metalleri tutması, metabolizmaya bağlı olan metal tutması ve metabolizmaya bağlı olmayan metal tutması diye iki Şekilde gerĕekleŐir:

i) Metabolizmaya bağlı olan metal tutması: Bu Şekildeki metal tutması, canlı mikroorganizmalarda metallerin hücre zarından hücre iĕine alınması Şeklinde gerĕekleŐir. Bu durum, mikroorganizma yeterince besin bulamadığı hallerde yavaŐ olur. Toksiklik etkisi olduğu hallerde metaller difüzyon yoluyla hücre iĕine alınır.

Hücresinin büyümesi sırasındaki besi ortamının kimyasal yapısındaki değişmeler ya da hücre tarafından salgılanan maddelerin metallerle kompleks veya ĕökelek oluŐturması sebebiyle mikroorganizmaların metal tutma kapasitesinde artma veya azalma olabilir.

ii) Metabolizmaya bağlı olmayan metal tutması: Bu Şekildeki metal tutma olayı ĕođu zaman ölü mikroorganizmalar tarafından gerĕekleŐtirilir. Bu mikroorganizmanın hücre duvarının dış yüzeyine adsorpsiyon Şeklinde gerĕekleŐir. Bununla beraber canlı mikroorganizmalar da adsorpsiyonla metalleri tutabilmektedir. Metallerin metabolizmaya bağlı olmadığı durumlardaki adsorpsiyonla tutunma oldukça hızlıdır. Metallerin adsorpsiyonla tutunması, değiştirme adsorpsiyonu, fiziksel adsorpsiyon ve kimyasal adsorpsiyon olmak üzere üç Şekilde gerĕekleŐir:

Değiştirme adsorpsiyonu: Bu olay, ĕekim kuvvetleri ile gerĕekleŐir. Genellikle metallerin hücredeki negatif yüklü ligantlarla bağlanmasıyla gerĕekleŐir.

Fiziksel adsorpsiyon: Bu tür adsorpsiyon Van der Waals kuvvetleri ile gerĕekleŐir. Bu durumda adsorplanan metaller, hücre iĕine geĕer ve iĕeride hareket eder.

Canlı ve ölü mikroorganizmaların bir destek katısı üzerine tutturulmasıyla oluşan metal tutuklanmasının üstünlükleri ve yetersizlikleri aşağıdaki gibi sıralanabilir:

Canlı mikroorganizmaların bir destek katısı üzerine tutturulmasıyla oluşan metal tutması:

Üstünlükleri:

Metallerin bağlandığı uçlar doyunluğa ulaşmaz. Uçlar dolduğunda, mikroorganizma kendini yenileyerek yeni uçlar oluşturur. Metaller hücre içine alındığı için, metal tutması H^+ erişiminin değişmesinden etkilenmez. Metabolik aktivite sonucunda metallerin yükseltgenme basamaklarında değişmeler olabilir. Bunun yanında organometalik bileşikler de oluşur.

Yetersizlikleri:

- 1) Metaller hücre içerisine alındığı için geri kazanılması mümkün değildir.
- 2) Toksiklik etkisi sebebiyle metal derişimlerinin belli bir düzeyde tutulması gerekir.
- 3) Mikroorganizmanın fizyolojisine uygun koşullarda çalışması gerekir.
- 4) Besin maddesine ihtiyaç duyulur.
- 5) Ortama sindirim sonucu bazı atıklar atılır.
- 6) Sindirilmeyen fazla besin maddeleri ortama atılır.

Ölü mikroorganizmaların bir destek katısı üzerine tutturularak metal tutması:

Üstünlükleri:

- 1) Tutunma, mikroorganizma büyümesine bağlı değildir. Metallerin toksikliğinden etkilenmez.
- 2) Metal tutulması hızlı ve verimi yüksektir. Biyokütle bir iyon değiştirici gibi davranır.
- 3) Biyokütleyle tutunan metaller bir geri alma çözelti yardımı ile kolaylıkla geri kazanılabilir.

Yetersizlikleri:

- 1) Metallerin tutundukları uçlar çok çabuk doyunluğa ulaşır. Tekrar kullanmak için, tutunan metallerin bir geri alma çözeltisi yardımı ile geri alınması gerekir.
- 2) Metallerin tutunması, H^+ derişimi ve metal türü gibi bazı etkilere bağlıdır.
- 3) Organometalik bileşikler oluşarak metabolik bozunma oluşmaz.
- 4) Metallerin bağlandığı uçların artışı mümkün değildir [42].

3.4.1. Alglerin metal tutması

Algalarda metallerin tutunması pek çok bağlanma ucu tarafından gerçekleştirilir. Polisakkaritler, selüloz, uronik asit ve proteinler bunlara örnek verilebilir. Algalarda metabolizmaya bağlı olmadan metallere tutunma süresi 5-10 dakikadır [42].

Metallerin, protein ve polisakkaritlere, hem elektrostatik etkileşim hem de kovalent bağla bağlandığı görülür. Amino ve karboksil gruplarına ise kovalent olarak bağlanırlar. Tatlı sularda ve deniz sularında yaşayan algelerin yaptıkları metal tutması, çözeltinin metal derişimi ve mikroorganizma tarafından tutunan metal derişimi arasında lineer bir denge olduğu gözlenmiştir. Bu denge de Freundlich ve Langmuir adsorpsiyon izotermine uyulduğu gözlenmiştir. Eğer ortamda başka türler olursa algelerin tutunmadaki seçiciliği azalır.

3.5. Mikroorganizmaların Bir Destek Üzerinde Tutunma Teknikleri

Araştırmacıların, mikroorganizmaların tutunması ile ilgili çalışmaları yeni olmasına rağmen, doğada bu durum eskiden beri olmaktadır ve yaygın bir şekilde görülmektedir. Mikroorganizmaların yüzeye tutunmaları, mikrobiyal ekolojik yönünden önem taşımaktadır. Yüzeyde hücrelerin büyümesi ile oluşturulan “biyofilmler”, mikroorganizmaların kullanıldığı sanayi işlemlerde çokça kullanılmaktadır. Son yıllarda geliştirilen enzim tutunma tekniklerinin mikroorganizma tutunmasında da kullanıldığı görülmektedir. Dolayısıyla mikroorganizmaların yüzeye tutunması şeklinde oluşturulan bu yöntem, bilimsel çalışmalara yeni bir boyut kazandırmıştır [42].

Hücrelerin fiziksel olarak katı bir destek içine hapsedilmesi ya da katı yüzeyinin belli bölgelerine tutunmasına “mikroorganizma tutunması” denir. Mikroorganizma tutunması, mikroorganizma, katı veya jel destek ve çevreyi saran çözültiden oluşan üç önemli bölümden oluşur. Bu çözültinin kimyasal özelliği ana çözültiden farklıdır. Bu çözültiyi, mikro-çevre olarak adlandırmak daha doğru olur.

Mikroorganizma tutunmasında aşağıdaki yöntemler kullanılmaktadır:

- i) Yüzeye tutunma
- ii) Gözenekli yapı içinde hapsedme
- iii) Engel arkasında tutma

iv) Kendi kendine tutunma

3.5.1. Yüzeğe tutunma

Bu yöntemde, mikroorganizma yüzeğe bağ yapmadan tutunur. Tutunan mikroorganizmalar yaklaşık 1 mm kalınlığında tek tabaka halindedir. Mikroorganizmaların tutunması doğada yaygın bir şekilde görülür. Diş plakaların üzerindeki mikroorganizmalar, bu tür tutunmaya iyi bir örnek olarak verilebilir. Asetik asit üretimi için, mikroorganizmaların odun parçalarına tutturularak kullanıldığı eskiden beri bilinmektedir. Mikroorganizmaların yüzeğe tutunma yöntemi, uygulaması kolay olduğu için, yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu yöntemde mikroorganizmaların dayanıklılığı, destek maddesi ve mikroorganizmanın türüne bağlıdır. Bu yöntemde çözelti ile mikroorganizmalar arasında engel olabilecek herhangi bir tabaka yoktur. Ancak, bunun yanında destek maddesi üzerinde oluşan biyofilm tabakasının kalınlığını kontrol etmek güçtür [42].

Destek yüzeyine mikroorganizma tutunma tekniği sanayi alanında, bilhassa atık suların arıtılmasında, yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Sınıflandırılması yapılmamış mikroorganizmalar, kum, çakıl veya taşların gözeneklerine girerek biyofilmler oluşturmaktadır.

Hücreler, glüteraldehitte çapraz bağlama, silika jel silanizasyonu ve metal oksitlerine şelat oluşturarak kimyasal yoldan bağlanabilir. Kovalent bağla bağlanan hücreler ile adsorpsiyonla tutuklanan hücreler arasında benzerlikler vardır.

3.5.2. Engel arkasında tutunma

Bu yöntemde daha önceden kullanıma hazırlanmış engeller ya da mikroorganizmanın bulunduğu ortamda hazırlanmış engeller yanında birbirleriyle karışmayan aralarında sıvı-sıvı temas yüzeyi oluşturan sıvılar da kullanılabilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, yarı-geçirgen membranlar engel olarak kullanılmaktadır. Bu engeller üzerine mikroorganizmalar tutturulmaktadır [42].

Tutunan mikroorganizmaların, serbest mikroorganizmalara göre üstünlüğü daha uzun süre dayanıklı olmalarıdır. Kütle aktarımı yetersizliği nedeniyle, engel arkasında tutunmada tepkime hızındaki azalma olmaktadır.

3.5.3. Gözenekli yapı içinde hapsedme

Gözenekli yapı içinde mikroorganizmaların hapsedilmeleri aşağıdaki gibi olur:

i) Mikroorganizmalar, önceden hazırlanmış olan gözenekli bir yapı içine difüze edilir. Mikroorganizmalar büyümeye başladıklarında ortamda bulunan diğer mikroorganizmalar ve yapı tarafından hareketleri engellenmiş olur. Bu şekilde mikroorganizmalar yapı içine hapsedilmiş olur. Yapı, aynı zamanda tutunmuş olan mikroorganizmaları da dış ortamdaki etkilerden korumuş olur.

Mikroorganizmaların hapsedilmesinde pek çok yapı kullanılmaktadır. En fazla kullanılan yapı türleri, gözenekli cam, briketler, volkanik kayalar ve çeşitli seramiklerdir.

ii) Gözenekli yapı, mikroorganizmaların bulunduğu ortamda hazırlanırken mikroorganizmaları sarmalarını sağlar. En çok kullanılan yöntem, mikroorganizma etrafında polimerik madde sentezlenerek mikroorganizmaların jel içinde hapsedilmesi yöntemidir.

Daha önceden hazırlanmış olan yapıların sıkıştırmaya dayanıklı olması ve mikroorganizmaların büyümesinde zararlı etkilerin olmaması, mikroorganizma ortamında hazırlanan yapılara göre bazı yararlar sağlar. Bununla beraber, önceden hazırlanmış yapılara yüksek yoğunlukta hücre oluşturulmaması bunlar için bir dezavantajdır [42].

4.BÖLÜM

ATOMİK SPEKTROSKOPİSİ

Gaz halindeki atomların veya gaz halindeki tek atomlu iyonların absorpsiyon, emisyon ve floresans özelliklerine dayanan spektroskopi dalına atomik spektroskopisi denir. Atomik spektroskopisiyle gaz halindeki atomların ve iyonların ultraviyole,görünür bölge ve X-ışınları spektrumları incelenir [73].

4.1. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS)

Atomik absorpsiyon spektroskopisi, ışın enerjisinin temel halde bulunan serbest haldeki atomlar tarafından absorplanmasını inceler. Bir atomun temel haliyle uyarılmış halleri arasındaki enerji farkları başka bir atominkinden farklı olduğundan, her atomun kendine özgü bir absorpsiyon spektrumu vardır. Absorbe edilen ışık miktarı ölçülerek, örnekte bulunan elementin konsantrasyonu tayin edilir.

Atomik absorpsiyon spektroskopisi, bir analitik yöntem olarak 1960'larda geliştirilmiştir. Çok yakın geçmişte, atomik emisyon spektroskopisi (AES) ve AAS'nin bir tamamlayıcısı olarak da plazma emisyon spektroskopisi birçok analizler için yeni olanaklar sağlamıştır. Atomik absorpsiyon spektrometreleri (AAS), analitik kimya laboratuvarlarında çok yaygın olarak kullanılan bir cihazdır. AAS olayları iki ana prosese ayrılır:

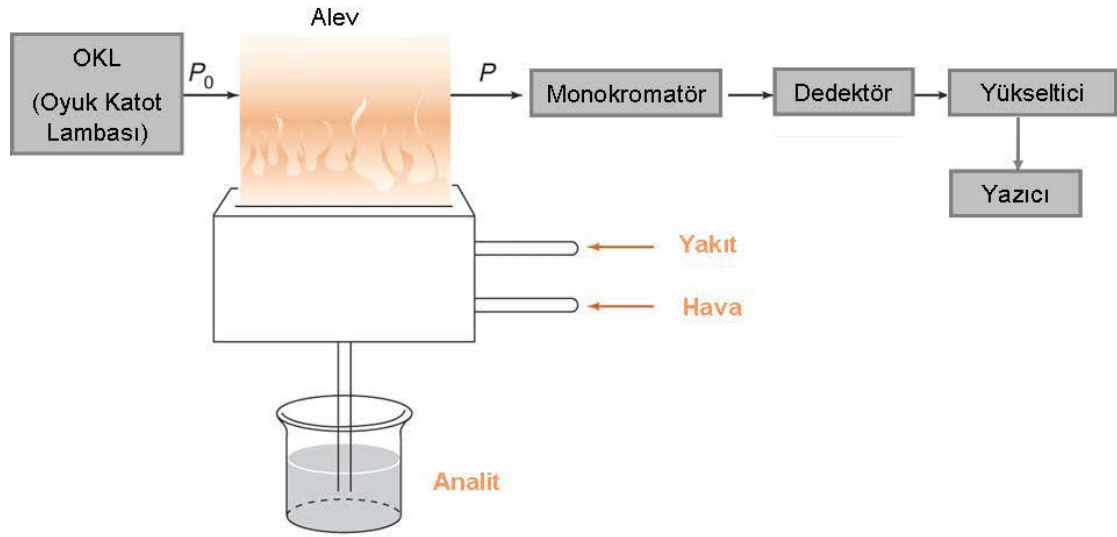
Örnekten serbest atomların oluşturulması,

Dış kaynaktan gelen ışının oluşturulan serbest atomlar tarafından absorbe edilmesidir [73].

4.1.1. Sistemin temel bileşenleri

Atomik absorpsiyon spektrometrelerinin en önemli kısımları; analite özgü dalgaboyunda ışık yayan bir ışık kaynağı (OKL), örnek çözeltisinin atomik buhar haline

getirildiği atomlaştırıcı, çalışılan dalgaboyunu diğer dalgaboylarından ayıran monokromatör ve ışık şiddetinin ölçüldüğü detektördür [73].



Şekil 4.1. Atomik absorpsiyon spektrometresi blok diyagramı

AAS yönteminde ilk olarak, atomlaştırıcı ile örneğe ait serbest atomlar oluşturulur. Daha sonra oluşturulan bu serbest atomlar üzerine ışık kaynağından ışık gönderilerek, ışık kaynağından gelen ışının bu atomlar tarafından absorplanması sağlanır. Alevde, örneğin atomlaştırılabilmesi için ilk olarak örnek çözeltisinin aleve püskürtülmesi gerekir. Sıvı örnek, sisleştirici vasıtasıyla yüksek basınçlı bir gazla karıştırılıp ince damlacıklar şeklinde sise dönüştürüldükten sonra, aerosoller şeklinde aleve püskürtülür. Örnek, yakıt ile birlikte aerosoller halinde aleve girdikten sonra, çözücüsü buharlaştırılır. Çözücüsü uçurulduktan sonra geriye kalan katı madde buharlaştırılır ve atomlarına dönüştürülür [73].

Atomlaştırma, aerosol içindeki analizlenecek maddenin temel haldeki serbest atomlarına dönüştürülmesi işlemidir. Örneğin atomlaştırılması için alevli ve alevsiz atomlaştırıcılar kullanılmaktadır. Alevli atomlaştırıcılarda, alev içine püskürtülen örnek çözeltisinin önce çözücüsü buharlaştırılır ve geriye kalan katının gaz halinde atomlarına ayrılarak atomlaşması sağlanır. Bu atomlar AAS'de absorpsiyon yapan türlerdir. Alev sıcaklığı AAS'de önemlidir. Tam istenen sıcaklık yanıcı/yakıcı gaz oranına bağlıdır. Alevde atomlaşma verimi bu orana bağlı olarak değişir.

Her elementin atomlaşması için gerekli olan yanıcı ve yakıcı gaz türleri farklıdır. Alevli AAS’de bu gaz oranı ayarlanarak, temel düzeyde bulunabilecek serbest atomların sayısı yükseltilerek, emisyon ya da iyonlaşma gibi bozucu etkiler minimuma indirilebilir. AAS’de en yaygın olarak kullanılan alev hava/asetilen alevidir. Sağlanan sıcaklık birçok elementin atomlaşması için yeterlidir. Ancak alüminyum, bor, baryum, molibden, skandiyum, berilyum, silisyum, talyum, vanadyum, zirkonyum, lantanid ve aktinidler gibi alevde çok kararlı ve parçalanması güç oksitlerine dönüşen elementlerin atomlaşması için, hava/asetilen yerine daha yüksek sıcaklık sağlayan azotprotoksit/asetilen alevi kullanılır. Bu yanıcı-yakıcı gaz karışımları tayin edilecek elemente bağlı olarak belirlenir ve 5 ya da 10 cm uzunluğundaki burner (alev başlığı)’a gönderilerek, elementlerin gaz halindeki atomlarına dönüştürülmesi sağlanır [73].

4.1.2. Işın kaynakları

AAS’de dar hatlı ışın kaynakları kullanılmaktadır. Işın kaynakları olarak oyuk katot lambası (OKL), elektrotsuz boşalım lambaları (EBL) ve buhar boşalım lambalarıdır. En yaygın kullanılanı ise OKL lambalarıdır. Oyuk katot lambaları, düşük basınçta neon ya da argon gibi bir asal gazla doldurulmuş silindir biçiminde lambalardır. Katot, oyuk bir silindir şeklindedir ve analiz edilecek metalyada onun alaşımından yapılmıştır.

Anot ise tungsten veya nikelden yapılmış bir teldir. Lambanın gövde kısmı pyreks, pencere kısmı kuartzdır. Lamba 30 mA akım (dc) ve 400 V gerilimde çalışır. Anot ile katot arasına gerilim uygulandığında lamba içindeki asal gaz atomları anotta iyonlaşır. Oluşan iyonlar katota çarparak yüzeydeki metal atomlarını koparır ve uyarırlar. Uyarılan atomlar temel enerji düzeyine dönerken katot elementine özgü dalga boyunca ışımaya yaparlar [73].

AAS’de dar emisyon hattına sahip ışın kaynakları kullanılır. AAS ile tayinlerde primer ışın kaynağının yaydığı ışının şiddeti önemlidir. Ca-Mg, Fe-Ni-Cr gibi çoklu element oyuk katot lambaları da bulunmaktadır. Örneğin; Ca ve Mg ya da Fe, Ni ve Cr metalleri tek bir lamba ile tayin edilebilir. Genelde çoklu element lambaları, tekli element lambaları ile karşılaştırıldığında daha hassastır. Diğer metallerin spektral girişimlerini

önlemek için emisyon hatlarının seçiminde dikkat etmek gerekir. OKL kadar yaygın olmasa da elektrotsuz boşalım lambaları (EBL)'da AAS'de bazı elementlerin tayinlerinde kullanılmaktadır. Bu lamba, düşük basınçta argon gibi inert bir gaz ile incelenen metal ya da metalin tuzunu bulunduran kapalı kuvartz bir borudan oluşmuştur. Radyo frekans uygulanarak, inert gazın iyonlaşması ve katoda çarptırılarak serbest atomların oluşturulması sağlanır. Bu atomlar lamba içinde hızlı hareket eden dolgu gazı iyonları ile çarpışarak enerji absorbe eder ve uyarılırlar. Uyarılan atomlar temel hale dönerken katot metaline özgü ışın yayarlar.

Bu lambalar daha çok As, Se ve Sb gibi uçucu ve küçük dalga boylarında absorpsiyon yapabilen elementler için geliştirilmişlerdir. EBL lambalarının ışın şiddetleri OKL lambalarına göre 50-100 kat daha fazla olsada, OKL lambaları kadar kararlı ve güvenilir değildir [73].

4.1.3. Monokromatörler

AAS'de monokromatör, analitin rezonans hattını, alevden veya dağınık ışıktan ayırmak amacıyla kullanılır. Genel olarak ışığın girdiği bir yarık, toplayıcı mercek ve aynalar, dalga boylarını ayıran prizma ya da şebekeler (optik ağ), odaklayıcı mercek veya aynalar ve bir çıkış yarığına (odaklama düzlemi) sahiptirler. AAS'de genellikle kullanılan monokromatörler şebekeler ve optik ağ (grating) monokromatörleridir [73].

4.1.4. Dedektörler

AAS'de ışık sinyalinin elektriksel sinyallere dönüştürülmesi için dedektörler kullanılır. Dedektör olarak ışığa duyarlı bir katot, ardarda dizilmiş bir seri dinot ve en sonda yer alan bir anottan meydana gelen fotoçoğaltıcılar kullanılır. Fotoçoğaltıcılar UV ve görünür bölgenin kısa dalga boylarında Cs-Sb, görünür bölge için ise Se katot olarak kullanılır. Monokromatörden gelen bir foton katot yüzeyine çarparak elektron koparır ve bu elektron birinci dinoda çarparak buradan elektron koparır. Bu işlem diğer dinodlar üzerinde elektron sayısı katlanarak devam eder ve 12 dinot için $\sim 2 \times 10^7$ elektron açığa çıkar. Sonuçta foton sinyali genliği oldukça yüksek olan elektronik sinyale çevrilmiş olur [73].

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 [73].

4.1.6. Alevli AAS’nin diğer 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 sınırı ICP-OES ya yakın ama ICP-MS’e göre çok yüksek, dinamik aralığı ise çok düşüktür [73].

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 [73].

4.2.1. Duyarlık

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

$$S = \frac{\partial A}{\partial C}$$

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

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 bağılıdır ve 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 gösterilebilir.

$$S = mc + S_{bl}$$

Burada,

S: Ölçülen sinyal

C: Analitin derişimi

S_{bl} : Doğrunun y eksenini kestiği nokta

m: Doğrunun eğimidir. Bu tür eğrilerde kalibrasyon duyarlığı derişime bağılı 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 değer gerçekte 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.

$$C_L = \frac{\partial C}{\partial A} \cdot k \cdot \sigma$$

Burada;

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

σ : Tanık deney ölçümlerinden elde edilen absorban 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 değişmelere 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 absorbans değerinin standart sapmasının yaklaşık 10 katına karşılık gelen derişim veya kütlesine karşılık gelir.

5. BÖLÜM

DENEYSEL KISIM

5.1. Kullanılan Aletler

Bu çalışmada, yüksek çözünürlüklü sürekli alevli atomik absorpsiyon spektroskopisi (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 Tablo 5.1.'de verilmiştir. Atomlaştırıcı ortamı olarak hava /asetilen alevi, zemin absorpsiyonunu düzeltmek için de döteryum lambası kullanılmıştır.

Tablo 5.1. Aletsel parametreler

Element	Çalışılan Dalga boyu (nm)	Alev Genişliği (nm)	Alev Yüksekliği (mA)	Asetilen akış Hızı (L/min)	Zemin Düzeltme
Cd(II)	228.8018	50	5	45	Var
Cu(II)	324.7540	50	5	45	Var
Pb(II)	217.0005	50	6	75	Var

5.2. Amberlite XAD-4'ün Deneye Hazırlanması

Amberlit XAD-4 kopolimerleri, farklı monomerler kullanılarak elde edilen geniş yüzey alanına sahip bir polimer çeşididir. Bu polimerler, sert ve değişmeyen gözeneklere sahiptir. Organik çözücülere, asit ve bazik ortamlara karşı dayanıklıdır.

Deneyde kullanılan Amberlit XAD-4 polimerinin ortalama yüzey alanı 780 m²/g ve gözenek çapı 5 nm, polistiren–divinilbenzen kopolimeri olup apolar özelliğine sahiptir. Bu polimer Aldrich firmasından temin edilmiştir.

Sonra tekrar saf su Kolonlarda kullanmak üzere yaklaşık 10 g Amberlit XAD-4 alınarak sırasıyla metanol, saf su, 1 M HCl, saf su, 1 M HNO₃, saf su, içinde 30 dakika sürelerle

bekletildi ile yıkandıp 60 °C'da kuruyana kadar etüvde bekletildi. Kurutulan Amberlit XAD-4 polimeri daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere muhafaza altına alındı.

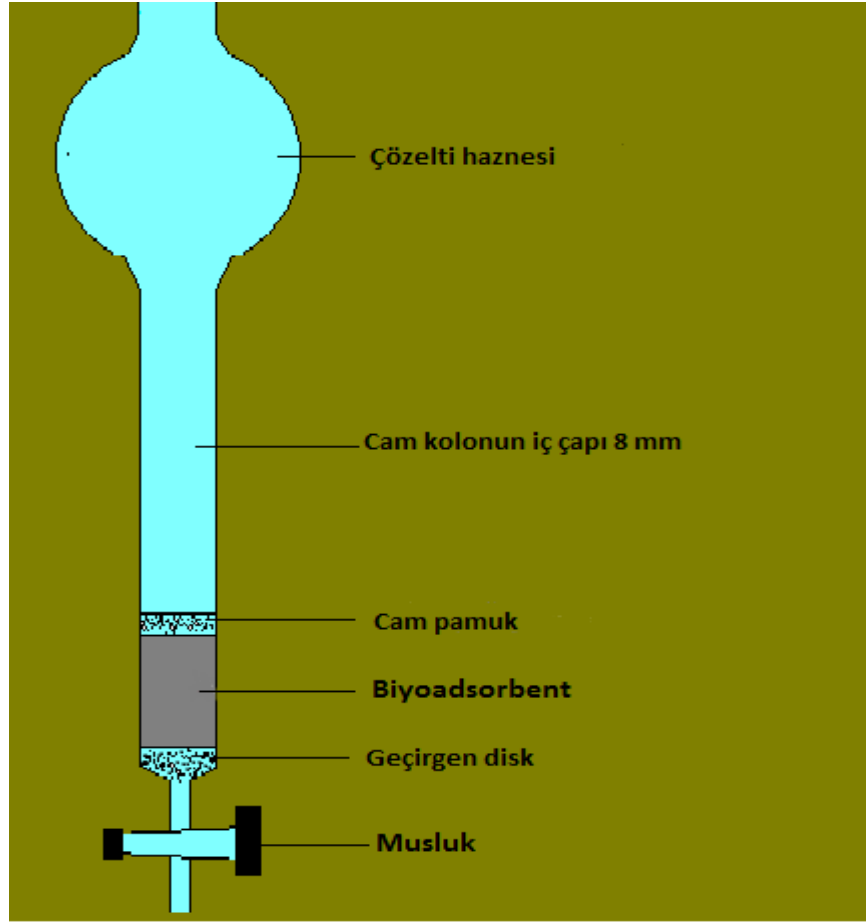
5.3. *Mucor pusillus*'nın Amberlite XAD-4 Üzerine İmmobilizasyonu

Mucor pusillus (mantar) kurutulmuş toz halinde Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Biyoloji Laboratuvarında temin edildi. Madde 5.2'de anlatıldığı gibi hazırlanan Amberlit XAD-4 polimerinden 3 g alınarak, 300 mg ölü ve toz halindeki *Mucor pusillus* beher içinde 3-4 mL saf su ile cam baget yardımıyla iyice ıslatılarak karıştırıldı. Karışım 105 °C'da yaklaşık 60 dakika süreyle kurumaya bırakıldı. Bu işlem birkaç kez tekrarlandı ve sabit tartıma getirildi. Elde edilen *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4, biyoadsorbent olarak Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) elementlerinin zenginleştirilmesinde katı faz olarak kullanıldı.

5.4. Adsorbsiyon Kolonunun Hazırlanması

Deney sırasında üst kısımda yaklaşık 500 mL çözelti alabilen 15-20 cm boyunda 0,5 çapındaki cam büret, kolon olarak kullanıldı.

Kolonlar yıkandıp temizledikten sonra kurutuldu ve alt kısım geçirgen camı bir disk yerleştirildi. Bunun üzerine *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 biyoadsorbenden 300 mg yerleştirildi. Biyoadsorbent üzerine de bir parça cam pamuğu yerleştirildi. Kolondan önce 10 mL 1 M HCl çözeltisi sonra birkaç kez su geçirilerek kolon yıkandı. 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 Maddeler ve Çözeltiler

Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) iyonlarının stok çözeltileri sırasıyla $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Merck), $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Merck) ve $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (Merck) katı maddesinden 2,7438 g, 5,2172 g, 1,5985 g alınarak 100 mL 10.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ lik çözeltiler hazırlandı. Daha sonra 10.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ çözeltilerden sırasıyla seyreltilerek 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ve 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ çözeltiler hazırlandı. Bütün çalışmalar 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ çözeltiler kullanılarak yapıldı.

Hidroklorik asit çözeltisi de, yoğunluğu 1,19 g/mL ve %37'lik derişik HCl çözeltisinden 20,7 mL alınıp, 1 M lik 250 mL' ye tamamlandı.

Nitrik asit çözeltisi, yoğunluğu 1,14 g/mL ve %65'lik derişik HNO_3 çözeltisinden 21,2 mL alınarak 1 M'lik ve 42,4 mL alınarak da 2 M'lik çözeltiler hazırlandı.

5.6. Zenginleştirme İşlemi ve Hesaplama Yöntemi

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

Çalışılan analitleri içeren 20 µg Cd(II),Cu(II) ve Pb(II) içeren 50 mL'lik sentetik çözeltiler belirlenen pH'da kolondan geçirildi. Daha sonra katı faza tutunan analitler 10 ml 1M 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:

% Geri Kazanma Verimi: $[AAS \text{ ile bulunan metal iyon derişimi } (\mu\text{g/mL})] / [\text{teorik olarak bulunması gereken derişim } (\mu\text{g/mL})] \times 100$

5.7. Zenginleştirme İçin En Uygun Şartların Belirlenmesi

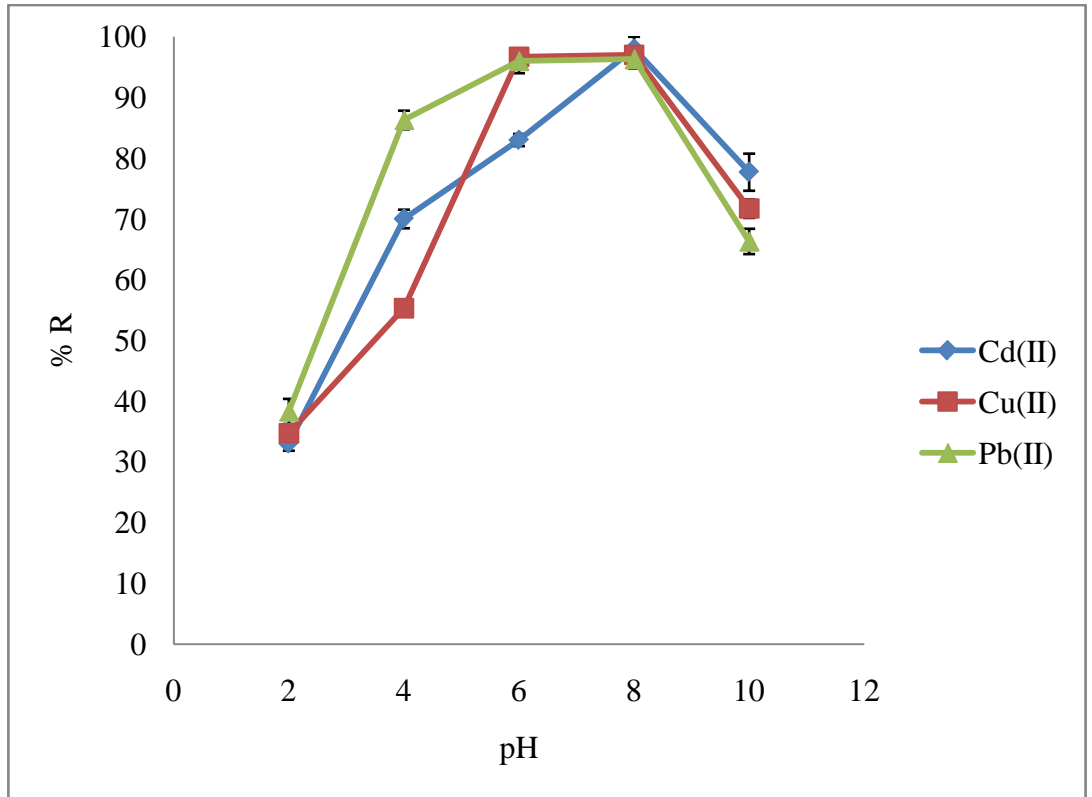
Bu çalışmada, önce her bir metal iyonu için ayrı ayrı en yüksek geri kazanma veriminin sağlandığı pH'lar belirlendi. Sonra, en yüksek geri kazanma veriminin sağlandığı pH'larda, uygun biyokütle miktarı belirlendikten sonra, geri kazanma verimini etkileyebilecek diğer faktörlerin araştırılmasına geçildi. 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 TomatoLeaves), ekleme yöntemi ile de çeşme suyu, Kızılırmak suyu ve domates yaprağı örneklerinde Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) tayin edildi.

5.7.1. pH'nın çalışılan elementlerde geri kazanma verimine etkisi

Mucor pusillus immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 üzerine, en fazla geri kazanma veriminin sağlandığı pH değerlerinin bulunması amacıyla her bir metal iyonu için 20 µg içeren 50 mL'lik bir seri model örnek çözeltileri hazırlanarak pH'ları 2 ile 10 arasında ayarlandı. pH ayarlaması 0,1 M hidroklorik asit ve amonyak çözeltileri kullanılarak pH metre cihazı yardımı ile yapıldı. Kolonda tutunan Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) iyonlarını geri almak için, eluent olarak 10 mL 1 M HCl çözeltisi kullanıldı. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4'de pH'ya bağlı olarak çalışılan elementler için, elde edilen geri kazanma verimleri Şekil 5.2.'de gösterilmiştir.

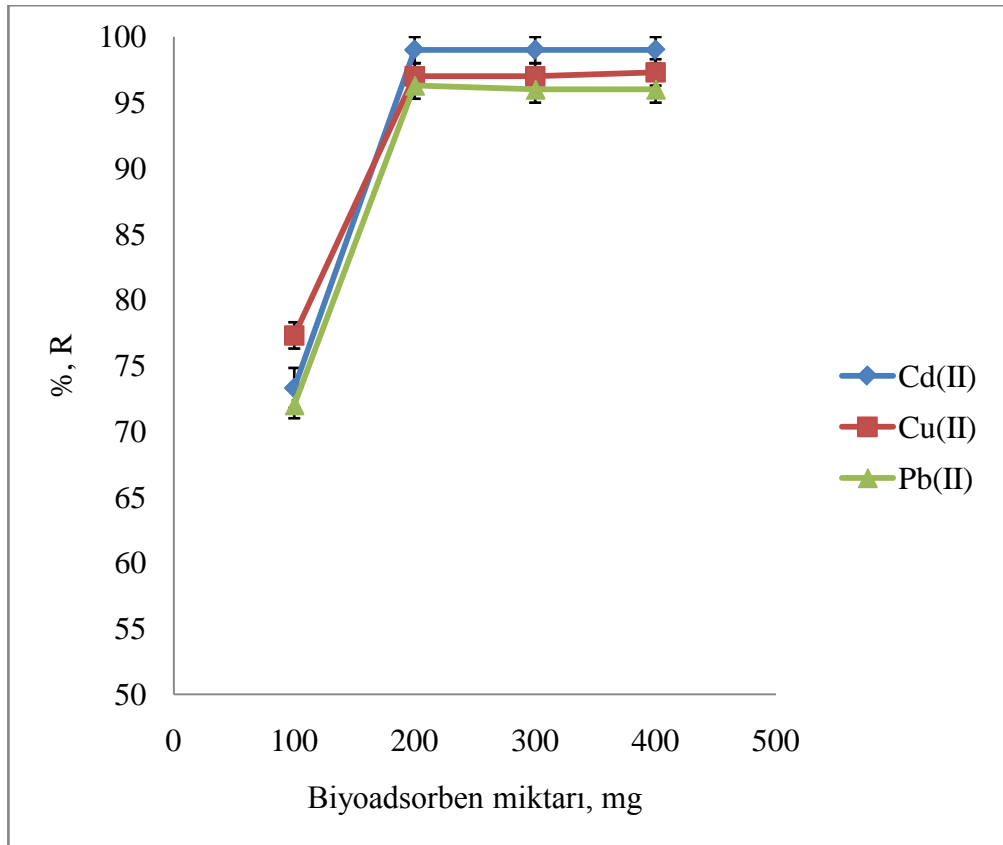
Bu çalışmada ilk önce Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) için geri kazanma veriminin yüksek olduğu pH aralıkları belirlendi. Daha sonra diğer faktörlerin etkisi araştırıldı.



Şekil 5.2. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4'de pH'nın Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) iyonlarının geri kazanma verimine etkisi

5.7.2. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 (biyoadsorben) miktarının geri kazanma verimine etkisi

Mucor pusillus immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 miktarının geri kazanma verimine etkisini incelemek için hazırlanan katı fazdan 100, 200, 300, 400 mg biyoadsorben tartılarak kolona yerleştirildi. Madde 5.5' ye göre hazırlanan model çözeltiler, en uygun pH'ya ayarlandı ve kolondan 1 mL/min hızla geçirildi. Sonra, biyoadsorben tutunan analat, 10 mL 1 M HCl kolondan geçirilerek geri alındı. Daha sonra geri alınan çözeltideki metal iyonları HR-CS FAAS ile tayin edildi. Cd(II), Cu(II) ve Pb(II)'un geri kazanma verimine *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 miktarının etkisi Şekil 5.3'de görüldüğü gibidir.



Şekil 5.3. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4'de biyoadsorben miktarının Cd(II), Cu(II) ve Pb(II)'nin geri kazanma verimine etkisi

5.7.3. Eluent çözeltisinin geri kazanma verimine etkisi

Model çözeltiler (Madde 5.5) kullanılarak Cd(II), Cu(II) ve Pb(II)'nin geri kazanma verimine, eluent çözeltisinin türü ve hacminin etkisi araştırıldı. Bu amaçla, kolonda tutunan Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) elementlerini geri almak için, 0,5 M 1 M HCl ve 0,5 M 1 M HNO₃ çözeltileri denendi. Sonuçlar Tablo 5.2' de görüldüğü gibidir. Buna göre en iyi geri kazanma veriminin 10 mL 1 M HCl olduğu görülmüştür.

Tablo 5.2. Eluent türü ve miktarının *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 kolonunda Cd(II), Cu(II) ve Pb(II)'nin geri kazanma verimine etkisi

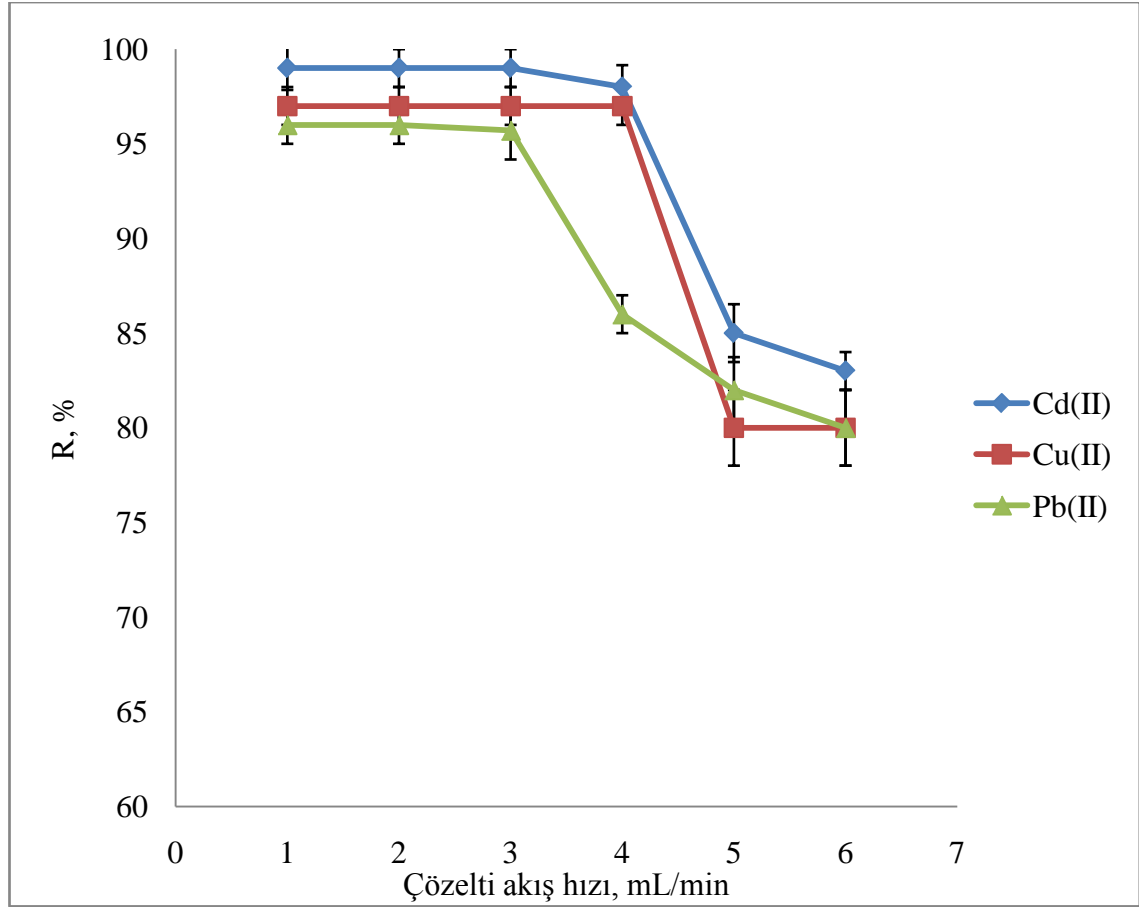
Element	Elusyon Türü	Hacmi, ml	Derişimi, M	Geri Kazanım, %
Cd(II)	HCl	5	1	86
		10	1	99
	HNO ₃	5	1	82
		10	1	94
Cu(II)	HCl	5	1	84
		10	1	97
	HNO ₃	5	1	80
		10	1	90
Pb(II)	HCl	5	1	86
		10	1	96
	HNO ₃	5	1	78
		10	1	90

Sonuçlar üç deneyin ortalamasıdır.

5.7.4. Çözelti akış hızının geri kazanma verimine etkisi

Çözelti akış hızının geri kazanma verimine etkisini araştırmak amacıyla, (Madde 5.6) da belirtilen model çözeltiler, daha önce tespit edilen en uygun şartlarda (pH 8, biyoadsorben miktarı 200 mg) *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 içeren kolonlardan 1-6 mL/min akış hızı aralığında süzüldü. Süzme işleminde çözelti akışı yerçekimi etkisinden yararlanılarak musluğun açılıp kapanmasıyla ayarlandı.

Kolonda tutunan metal iyonları belirlenen uygun eluent çözeltisi 10 mL 1 M HCl ile geri alındı. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4, çözelti akış hızının Cd(II), Cu(II) ve Pb(II)'nin geri kazanma verimine etkisi Şekil 5.4'de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre en uygun akış hızı Pb(II) için 3mL/min Cd(II) ve Cu(II) 4 mL/min olarak belirlenmiştir.

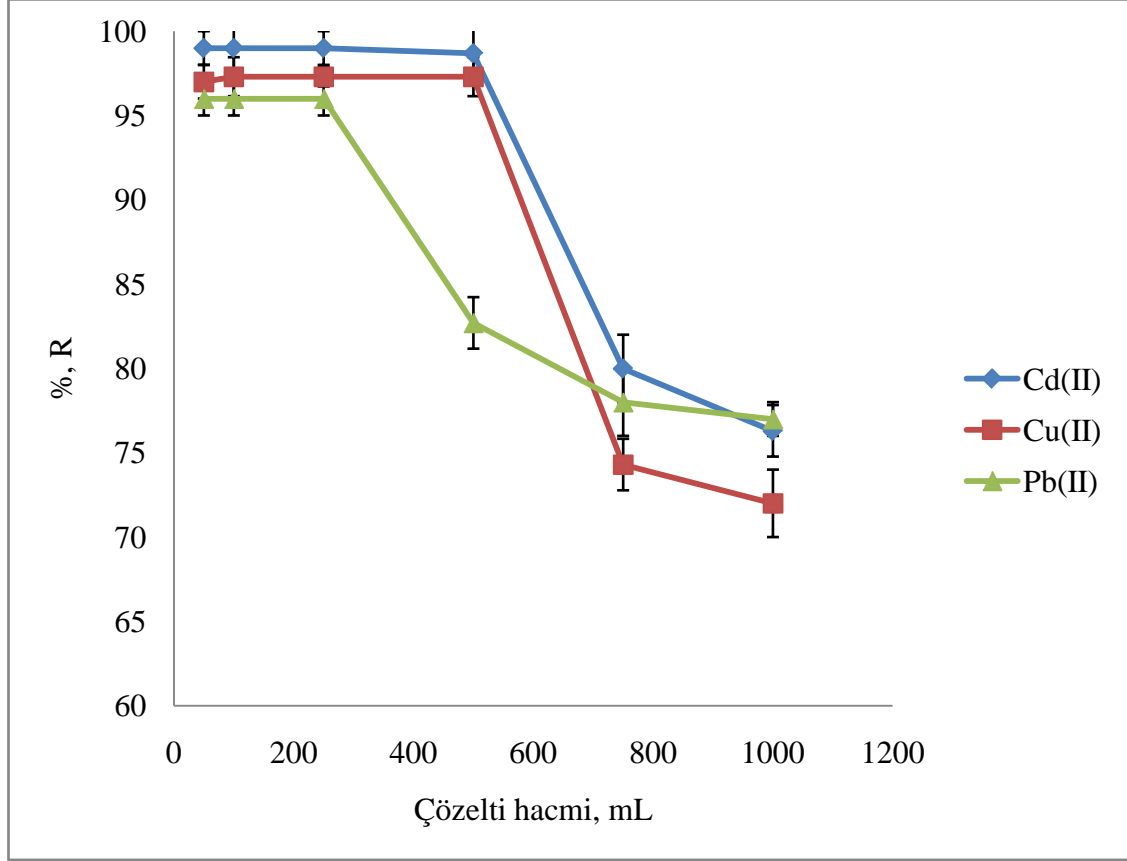


Şekil 5.4. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 de akış hızının Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) nun geri kazanma verimine etkisi

5.7.5. Çözelti hacminin geri kazanım verimine etkisi

Örnek çözelti hacminin geri kazanım verimine etkisini araştırmak amacıyla, ayrı ayrı Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) için 20 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 200 mg, Pb(II): 3 mL/min, Cd(II) ve Cu(II): 4 mL/min) süzüldü. Biyoadsorbene tutunan Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) 10 mL 1 M HCl çözeltisi ile geri alındı. Geri alınan

çözeltideki Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) iyonları HR-CS alevli AAS ile tayin edildi. Çözelti hacminin çalışılan elementlerin geri kazanma verimine etkisi Şekil 5.5’de gösterilmiştir.



Şekil5.5. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4'nin çözelti hacminin Cd(II), Cu(II) ve Pb(II)'nun geri kazanma verimine etkisi

5.8. Yöntemin Kesinliği ve Gözlenebilme Sınırı

Belirlenen en uygun şartlarda (pH, biyoadsorben miktarı, eluent çözeltisinin türü ve hacmi, örnek çözeltisinin hacmi ve çözelti akış hızı) ayrı ayrı *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4'de çalışılan her bir element için geri kazanma veriminin tekrarlanabilirliği araştırıldı. Bunun için, belirlenen en uygun deney şartlarında 5 ölçüm alınarak sonuçların bağıl standart sapmaları (BSS) ve % 95 güven seviyesinde geri kazanma verimleri hesaplandı. Bulunan sonuçlar Tablo 5.3'de gösterilmiştir.

Tablo 5.3. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 de yöntemin kesinliği

Metal iyonlar	*%R± ts / \sqrt{N}	% BSS	N
Cd(II)	99±3	3	5
Cu(II)	97±3	3	5
Pb(II)	96±2	2	5

*%95 güvenle 5 değer ortalamasıdır.

Geliştirilen yöntemin kesinliği Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) için 20 µg içeren 50 mL'lik stok çözeltilerde geliştirilen en uygun şartlarda araştırıldı. %95 güven seviyesinde (N=5) yöntemin kesinliği yüzde bağıl standart sapması cinsinden %3 olarak bulundu. Aletsel gözlenebilme sınırını belirlemek için pH: 8' e ayarlanan 50 mL saf su 3mL/min akış hızında kolondan geçirildi. Kolon 50 mL 1 M HCl ile elue edildi. Her element için geri alma çözeltileri için 20-25 okuma yapıldı. Cd(II), Cu(II) ve Pb(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, sırasıyla 62 µg/L, 74 µg/L, 235 µg/L olarak bulundu. Analitik gözlenebilme sınırı ise aletsel gözlenebilme sınırının zenginleştirme katsayısına (50 ve 25) bölümü ile 1,24, 1,48 ve 9,4 µg L⁻¹olarak bulundu. En uygun şartlarda sırasıyla, geri kazanma verimi %95 güvenle %99±3, %97±3, %96±2 olarak bulunmuştur.

5.9. Kolonların Kullanım Sayıları

Çalışmanın bu kısmında, biyoadsorbent olarak kullanılan *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4'un verimlilik süresi ve biyoadsorbentin sürekli kullanılmasından dolayı elementlerin geri kazanma verimindeki değişiklikler incelenmiştir. Bunun için, bir günde 6 ile 8 arası süzme ve geri alma işlemi yapılmış ve yedi gün içinde bu işlem tamamlanmıştır. Kolonlar ile çalışma yapılmadığı zaman, kolon saf su ile doldurulmuştur. Kolonlarda toplam 50 süzme ve geri alma işlemi yapılmıştır. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4'de geri kazanma veriminin kolonların kullanım sayısı Cd(II), Cu(II) için 40 ve Pb(II) için 35 defadan sonra geri kazanma verimi %90'nın altına düştüğü görülmüştür.

5.10. Doğruluk ve Uygulama

Yöntemin doğruluğunu test etmek için standart referans maddeye ve su örneklerine bilinen miktarda ekleme yöntemi ile araştırıldı. Bunun için standart referans madde (SRM-1573a Tomato Leaves)'ye ve bilinen miktarda Cd(II), Cu(II) ve Pb(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 HNO₃ eklenerek kısmi olarak çözülmeye başlandı. Daha sonra yaklaşık 5 mL derişik HNO₃ ilave edilerek ısıtıcı tabla üzerinde yaklaşık olarak 150±10 °C ye kadar 2-3 saat ısıtıldı. Daha sonra soğutulup üzerine yaklaşık 5 mL derişik H₂O₂ eklendi ve tekrar tamamen çözülmeye kadar ısıtılma işlemine devam edildi. Çözünme işlemi tamamlandıktan sonra örnek yaklaşık 2-3 mL kalıncaya kadar buharlaştırıldı. Referans maddenin yapısında kurşun elementi bulunmadığı için başlangıçta bilinen miktarda ilave edildi. Daha sonra bu çözelti 50 mL ye saf su ile tamamlandı ve genel zenginleştirme işlemi uygulandı. Sonuçlar Tablo 5.4 de görüldüğü gibidir.

Tablo 5.4. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 biyoadsorben ile standart referans maddede (SRM-1573a Tomato Leaves) Cd(II), Cu(II) ve Pb(II)

Metal iyonlar	Derişim ($\mu\text{g/g}$)		Bağıl hata, %
	Sertifikalı değer	Bulunan değer*	
Cd(II)	1.52 \pm 0.04	1.45 \pm 0.2	-5
Cu(II)	4.70 \pm 0.14	4.52 \pm 0.15	-4
Pb(II)	4.0 \pm 0.1	3.72 \pm 0.08	-7

*%95 güvenle 5 değerinin ortalamasıdır.

5.10.2. Domates yaprağı örneklerinde Cd (II), Cu(II) ve Pb(II) tayini

Geliştirilen yöntem ile domates yaprağı örneğinde Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) elementlerinin tayini yapıldı. Bu amaçla, Kızılırmak nehri (Nevşehir-Gülşehir) kenarında yetişen bahçelerde toplandı. Alınan örnekler önce çeşme suyu ile yıkandı daha sonra saf sudan geçirildi. Örnekler etüvde yaklaşık olarak 105 \pm 5 °C da 24 saatte kurutuldu ve kilitli poşetlerde muhafaza altına alındı. Kurutulmuş domates yaprağı örneklerinden 0,5'er gram örnek 250 mL'lik behere alındı. Örnek 5 mL 1M 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 HClO₄ eklendi. Isıtıcı tabla üzerinde tamamen çözününceye kadar ısıtıldı. Çözünmenin tam olmadığı durumlarda yukarıdaki işlem tekrarlandı. Çözeltiler su ile 50 mL'ye tamamlandı. Daha sonra genel zenginleştirme işlemi yapıldı. Bulunan sonuçlar Tablo 5.5'de verilmiştir.

Tablo 5.5. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 biyoadsorbeni ile domates yaprağı örneklerinde Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) tayini

Metal iyonlar	Derişim ($\mu\text{g/g}$)		Bağıl hata,%
	Eklenen	Bulunan ^{a)}	
Cd(II)	-	T.E	-
	10	9.4 \pm 0.2	-6
Cu(II)	-	4.8 \pm 0.1	-
	10	13.7 \pm 0.3	-7
Pb(II)	-	T.E	-
	10	9.3 \pm 0.2	-7

%95 güvenle 5 değerin ortalamasıdır.

T.E: Tayin edilemedi

5.10.3. Su örneklerinin analize hazırlanması

Su örneklerinin analize hazırlanması için, çeşme suyu Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Kimya Laboratuvarında ve Kızılırmak suyu, Avanos İlçesi merkezinden alındı. Polietilen kaplarına alınan sular, 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 Tablo 5.6 de olduğu gibidir.

Tablo 5.6. *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 biyadsorbenu ile çeşme suyu ve Kızılırmak suyunda Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) tayini (Çözelti hacmi; 250 mL)

Su Örnekleri	Metal iyonlar	Eklene(n)(µg/L)	Bulunan(µg/L) ^{a)}	Bağlı hata, %
Çeşme suyu	Cd(II)	-	T.E	-
		10	9.5±0.2	-5
	Cu(II)	-	12.3±0.4	-
		10	20.6±0.5	-8
	Pb(II)	-	T.E	-
		10	9.4±0.3	-6
Kızılırmak suyu	Cd(II)	-	T.E	-
		10	9.3±0.3	-7
	Cu(II)	-	20.4±0.6	-
		10	28.7±0.7	-6
	Pb(II)	-	T.E	-
		10	9.2±0.2	-8

% 95 güvenle 5 değerin ortalamasıdır.

6.BÖLÜM

TARTIŞMA VE SONUÇLAR

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 alevli AAS ile genellikle istenen hassasiyetle doğrudan tayin edilemezler. Çünkü alevli AAS'nin tayin sınırı bu elementlerin doğrudan tayini için yeterli değildir. Ayrıca, birçok aletli analiz yöntemi gibi alevli AAS yöntemi de bağıl 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 artmaya veya azalmaya, 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 matriksinden de kurtulduğu için zemin girişimleri de azalmış olur. Birçok durumda zemin düzeltilmesine bile gerek kalmayabilir.

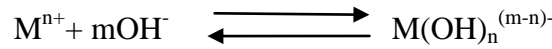
Bu çalışmada ayırma ve zenginleştirme yöntemi olarak katı faz özütleme tekniği kullanılmıştır. Katı faz olarak *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 kullanılmıştır. Çalışmada özellikle Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) gibi eser elementlerinin zenginleştirilme şartları araştırılmıştır. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi çeşme suyuna, Kızılırmak suyu örneklerine, standart referans domates yaprağı (SRM 1573a TomatoLeaves) uygulanarak söz konusu elementlerin analizleri yapılmıştır.

6.1. pH'nınGeri Kazanma Verimine Etkisi

Örnek çözeltilisinin pH değerinin çalışılan elementlerin geri kazanma verimine etkisi Şekil 5.2'de görülmektedir. Sonuçlar incelendiğinde; *Mucor pusillus* immobilize

edilmiş Amberlit XAD-4’de en yüksek geri kazanma veriminin sağlandığı pH değerleri Cu(II) ve Pb(II) için 6-8 arasında Cd(II) için ise 8’dir.

Mikroorganizmalarda birçok ortak fonksiyonel grup vardır. Bunlardan bazıları amin, amid, imidazol, hidroksil, karboksil, fosfat, tiol ve tiyoeterdir [42]. Metal iyonları bu fonksiyonel gruplara genellikle nötrale yakın pH’larda (6-8 pH aralığında) daha fazla tutunurlar [42]. 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 [42]. 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. Katı Faz Miktarının Geri Kazanma Verimine Etkisi

Mucor pusillus immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 miktarının geri kazanma verimine etkisi Şekil 5.3’de görülmektedir. Elde edilen sonuçlara göre, Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) metal iyonları için 200 mg biyoadsorbenin 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 200 mg *Mucor pusillus* immobilize edilmiş olan Amberlit XAD-4’ün en uygun miktar olduğu belirlendi.

6.3. Eluent Çözeltisinin Geri Kazanma Verimine Etkisi

Örnek çözeltilerinin pH değerleri, en yüksek geri kazanma veriminin sağlandığı pH'lara ayarlanıp, 200 mg katı faz içeren kolonlardan geçirilmiş ve geri kazanma verimini %95'in üzerine çıkarmak amacıyla kolonlarda tutunan elementleri geri almak için Tablo 5.2.'de kullanılan eluent çözeltisinin türü, hacmi ve derişiminin etkisi incelenmiştir. Sonuçta 10 mL 1 M HCl'nin uygun olduğu görülmüştür.

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, 1-6 mL/min hız aralığında incelendi. Çözelti akış hızı, yerçekimi etkisi ile kullanılan kolonlardaki musluklar açılıp kapatılarak ayarlandı. Genellikle 3-4 mL/min akış hızından sonra verimin düştüğü görülmektedir. Şekil 5.4'de incelendiğinde daha iyi anlaşılmaktadır.

Elde edilen sonuçlar; *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 için Şekil 5.4 'de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre, *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4'da en yüksek akış hızı Pb(II) için 3 mL/min, Cd(II) ve Cu(II) için 4 mL/min'dir. 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 Amberlit XAD-4'de Pb(II) için 250 mL'ye kadar, Cd(II) ve Cu(II) için 500 mL'ye kadar nicel geri kazanma verimlerine ulaşılmış, bu hacimlerin üzerinde ise geri kazanma verimleri düştüğü görülmüştür. Bu durum Şekil 5.5' de görülmektedir. Bu sonuçlara göre 250 mL ve 500 mL'lik örnek çözeltiler süzülürken ve 10 mL geri alma çözeltisi ile geri alındığında zenginleştirme teorik olarak sırasıyla zenginleştirme faktörü 25 ve 50 kat olmuştur.

Sonuç olarak, *Mucor pusillus*'nin Amberlit XAD-4'e immobilize edilmesiyle oluşturulan biyoadsorben hem eser element analizlerinde hem de çevre örneklerindeki metal kirliliğinin giderilmesinde kullanılması mümkündür. Çözeltilerdeki element miktarları aynı olduğundan, çözelti hacmi arttıkça element derişimi de değişmektedir. 250 mL çözeltide 9,4 µg/L Pb(II) ve 1,24 µg/L Cd(II), 1,48 µg/L Cu(II) bulunmaktadır. Normal olarak bu derişimler alevli AAS'nin tayin sınırı altındadır. Ancak teorik olarak yapılan 25 kat derişirme ile Pb(II), 235 µg/L'ye Cd(II) ve Cu(II) 50 kat derişirme ile Cd(II) 62 µg/L'ye ve Cu(II) ise 74 µg/L'ye yükselmektedir. Bu sonuçlara göre, alevli AAS ile tayin edilemeyecek derişimde metal içeren bir su örneğinin, geliştirilen yöntemle zenginleştirildikten sonra analiz edilebileceği söylenebilir.

6.6. Tekrarlanabilirlik

pH, biyoadsorben miktarı, eluent çözeltisinin türü ve hacmi, örnek çözeltisi hacmi, element derişimi gibi daha önce belirlenen en uygun şartlarda geri kazanma veriminin tekrarlanabilirliği, yani geliştirilen yöntemin kesinliği araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 5.3. 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 elementlerinin 100 ppm'lik standart çözeltilerinden alınarak hazırlanan kalibrasyon çözeltilerinin 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 sınırının 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 62 µg/L, 74 µg/L ve 235 µg/L olarak bulunmuştur. Bu değerler zenginleştirme faktörüne bölüldüğünde ise 1,24 µg/L, 1,48 µg/L ve 9,4 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 gözlenebilme sınır değerleri en çok 1,24-9,4 µg/L mertebesinde olup oldukça küçüktür ve hemen hemen elektrotermal atomlaştırıcı AAS'nin tayin sınırları mertebesinde. 1,24 µg/L'lik bir LOD için tayin sınırı $1,24 \mu\text{g/L} \times 3 = 3,72 \mu\text{g/L}$ olup, 50 kat zenginleştirme ile $186 \mu\text{g/L}'\text{lik} = 0,186 \mu\text{g/mL}'\text{lik}$ derişime karşılık gelmektedir.

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, Pb(II) için 35Cd(II) ve Cu(II) için ise 40 kullanılabilir. Her ne kadar kullanım sayısı artıka geri kazanma veriminde azalma olduysa da, Amberlit XAD-4' e immobilize edilmiş *Mucor pusillus* içeren kolonda 35-40 kullanıma kadar geri kazanma veriminin %90'ın üzerinde olduğu görülmektedir. Bu sonuçlara göre, katı

fazların tekrar kullanılabilirliği oldukça iyidir. Yaklaşık olarak arka arkaya yapılan 40 zenginleştirme işleminden sonra kolonun yenilenmesi gerekmektedir. Kolonda çok az miktarda (~ 200 mg) katı faz kullanıldığı için bir gramlık bir katı faz hemen hemen 200 işleme yeterli olmaktadır.

6.9. Uygulama

Bu çalışmada *Mucor pusillus* Amberlit XAD-4'e immobilize edilmiş ve Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) iyonlarının zenginleştirilmesinde kullanılmıştır. Bu elementlerin zenginleştirilmesi ve tayini için en uygun şartlar (pH, biyoadsorbent miktarı, eluent çözeltisinin derişimi ve hacmi vb.) araştırılmıştır. Geliştirilen yöntem, belirlenen en uygun şartlarda gerçek örneklerle (Standart referans maddeye SRM-1573a Tomato Leaves), çeşme suyu, Kızılırmak suyu ve domates yaprağı örnekleri) uygulanmıştır. Sonuçlar, Tablo 5.2, Tablo 5.3, Tablo 5.4, Tablo 5.5, Tablo 5.6'da verilmiştir. Bulunan sonuçlardan geliştirilen yöntemin gerçek örneklerle uygulandığında doğru ve güvenilir sonuçlar verdiği anlaşılmaktadır. Analiz edilen bütün gerçek örneklerdeki iyonlar *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 ile en fazla %8 bağıl hata ile tayin edilmiştir. Bu değerler gerçek örnek analizleri için kabul edilebilir sınırlar içerisinde. Sonuç olarak, *Mucor pusillus*'nin Amberlit XAD-4'a immobilizasyonu, bitki ve su örnekleri gibi karmaşık yapıdaki ortamlardaki tayin elementlerinin 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.

6.10. Sonuçların Özetlenmesi

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar şöyle özetlenebilir:

❖ *Mucor pusillus* Amberlit XAD-4 üzerine immobilize edilmiş biyoadsorbent ile Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) nöttüre yakın ortamdan zenginleştirilebilmekte ve alevli AAS ile tayin edilecek seviyeye getirilebilmektedir.

- ❖ Genellikle zenginleştirme çalışmalarında çözeltilere şelat oluşturuıcı maddeler ilave edilir ve bu kirlenmeyi artırır. Bu çalışmada ise Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) şelat oluşturuıcı madde ilave edilmeden zenginleştirilebilmiştir.
- ❖ Belirlenen en uygun şartlarda Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) nicel olarak geri kazanılabilmektedir.
- ❖ Geliştirilen yöntem ile Cd(II), Cu(II) ve Pb(II), çeşme suyu, nehir suyunda ve domates yaprağı örneklerinde iyi bir doğrulukla tayin edilebilmektedir.
- ❖ Yöntemin doğruluğu için bilinen miktarda çalışılan metal iyonları gerçek örneklere eklenerek kontrol edildi ve bulunan sonuçlar -%8 hata ile analiz edildi.
- ❖ Analitik gözlenebilme sınırı 1,24µg/L, 1,48µg/L 9,4µg/L bulunmuştur. Bu derişimler alevli AAS ile doğrudan tayin edilemez.
- ❖ Yöntemin gerçek örneklere uygulanabilirliği oldukça basit ve ucuzdur.
- ❖ Önerilen zenginleştirme yöntemi ile 25-50 kat zenginleştirme yapılabilmektedir.
- ❖ Biyoadsorben olarak kullanılan katı faz geri alma çözeltisi ile temizlendikten sonra 35-40 defadan fazla tekrar kullanılabilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Lesmana, S.O., Febriana, N., Soetaredjo, F.E., Sunarso, J., Ismadji, S., “Studies on potential applications of biomass for the separation of heavy metals from water and wastewater”, *Biochem. Eng. J.*, 44, 19–41, 2009.
2. Kalfa, O.M., Yalçınkaya, Ö., Türker, A.R., “Synthesis of nano B₂O₃/TiO₂ composite material as a new solid phase extractor and its application to preconcentration and separation of cadmium”, *J. Hazard. Mater.*, 166, 455–461, 2009.
3. Anthemidis, A.N., Ioannou, K.I.G., “Talanta. Recent developments in homogeneous and dispersive liquid–liquid extraction for inorganic elements determination” *A review.*, 80, 413, 2009.
4. Özdemir, C., Saçmacı, Ş., Kartal, Ş., “Anal. Methods. A coprecipitation procedure for the determination of some metals in food and environmental samples by flame atomic absorption spectroscopy” 5, 3977, 2013.
5. Alizadeh, K., Nemati, H., Zohrevand, S., Hashemi, P., Kakanejadifard, A., Shamsipur, M., Ganjali, M.R., Faridbod, F., “A new triazene-1-oxide derivative, immobilized on the triacetyl cellulose membrane as an optical Ni⁺² sensor”, *Mater. Sci. Eng. C.*, 33, 916, 2013.
6. Sereshti, H., Khojeh, V., Samadi, S., “Optimization of dispersive liquid–liquid microextraction coupled with inductively coupled plasma-optical emission spectrometry with the aid of experimental design for simultaneous determination of heavy metals in natural waters”, *Talanta.*, 83, 885, 2011.
7. Manzoori, J.L., Amjadi, M., and Hallaj, T., “Cloud point extraction for the determination of cadmium and lead employing sequential multi-element flame atomic absorption spectrometry”, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 89, 749, 2009.
8. Galbeiro, R., Garcia, S., Gaubeur, I., “A green and efficient procedure for the preconcentration and determination of cadmium, nickel and zinc from freshwater, hemodialysis solutions and tuna fish samples by cloud point extraction and flame atomic absorption spectrometry”, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.*, 28, 160–165, 2014.
9. Paneva, V.Z., Čundeveva, K., Stafilov, T., “Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry method for determination of trace metals in alkaline-earth

- matrices after flotation separation Spectrochim”, *Spect. Acta Part B*; 60, 3,403–40, 2005.
10. M.E., Mahmoud, I.M.M., Kenawy, M.M.A.H., Hafez and Lashein R.R., “Removal and preconcentration of lead (II) and other heavy metals from water by alumina adsorbents developed by surface-adsorbed-dithizone”, *Desalination*, 251, 123-130, 2010.
 11. Zawisza, B., Sitko, R., “Micro-electrodeposition in the presence of ionic liquid for the preconcentration of trace amounts of Fe, Co, Ni and Zn from aqueous samples”, *Spectrochim. Acta B.*, 82, 60-64, 2013.
 12. Knápek, J., Komárek, J., Novotný, K., “Determination of cadmium, chromium and copper in high salt samples by LA-ICP-OES after electrodeposition-preliminary study”, *Microchim. Acta.*, 170,145, 2010.
 13. Najafi, N.M., Eidizadeh, M., Seidi, S., Ghasemi, E., Alizadeh, R., “Developing electrodeposition techniques for preconcentration of ultra-traces of Ni, Cr and Pb prior to arc-atomic emission spectrometry determination”, *Microchem.J.*, 93, 159-163, 2009.
 14. Tokaloğlu, Ş., Livkebabçı, A., “A new solid phase extraction method for The determination of Cu(II) and Fe(III) in various samples by flame atomic absorption spectrometry using N-benzoyl-N-phenylhydroxylamine”, *Microchim.Acta.*, 164, 471, 2009.
 15. Molaakbari, E., Mostafavi, A., Afzali, D., “Simultaneous Separation and Preconcentration of Trace Amounts of Copper (II), Cobalt (II) and Silver (I) by Modified Amberlyst”, *J. Environ. Anal. Chem.*, 93, 365, 2013.
 16. Ghaedi, M., Niknam, K., Shokrollahi, A., Niknam, E., Ghaedi, H., Soylak, M., “A solid phase extraction procedure for Fe³⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺ ions on 2-phenyl-1H-benzoid imidazole loaded on Triton X-100-coated polyvinyl chloride”, *J. Hazard. Mater.*, 158, 131, 2008.
 17. Chandio Z.A. , TalpurF.N. , AfiridiI.H. , KhanH. , KhaskheliG.Q. and Khaskheli M.I , “Online preconcentration of nickel (II) in textile effluent and soil samples by SDS coated alumina modified with dithizone mini-column coupled with FAAS”, *Anal. Methods*, 5, 4425, 2013.

18. Zhu, X., Chang, X., Cui, Y., Zou, X., Yang, D., Hu, Z., “Solid-phase extraction of trace Cu(II) Fe(III) and Zn(II) with silica gel modified with curcumin from biological and natural water samples by ICP-OES”, *Microchem. J.*, 86, 189, 2007.
19. Baytak, S., Koçyiğit, A., Türker, A. R., “Determination of lead, iron and nickel in water and vegetable samples after preconcentration with *Aspergillus niger* loaded on silica gel”, *CLEAN- Soil, Air, Water*, 607-611, 2007.
20. Hajialigol S., Taher M.A., Malekpour A., “Determination of trace amounts of zinc by flame atomic absorption spectrometry after preconcentration with modified clinoptilolite zeolite”, *J. AOAC Int.*, 91, 1446, 2008.
21. Baytak, S., “Solid-Phase Extraction with Ram Horn Powder for Lead and Cadmium Determination in Environmental Samples by Flame Atomic Absorption Spectrometry”, *Acta Chimica Slovenica*, 385-391, 2007.
22. He, Q., Hu, Z., Jiang, Y., Chang, X., Tu, Z., Zhang, L., “Preconcentration of Cu(II), Fe(III) and Pb(II) with 2-((2-aminoethylamino)methyl)phenol-functionalized activated carbon followed by ICP-OES determination”, *J. Hazard. Mater.*, 175, 710, 2010.
23. Gao, R., Hu, Z., Chang, X., He, Q., Zhang, L., Tu, Z., Shi, J., “Chemically modified activated carbon with 1-acylthiosemicarbazide for selective solid-phase extraction and preconcentration of trace Cu(II), Hg(II) and Pb(II) from water samples”, *J. Hazard. Mater.*, 172, 324–329, 2009.
24. Zhang, Li, Chang, Xijun, Zhenhua, Li, He, Qun, “Selective solid-phase extraction using oxidized activated carbon modified with triethylenetetramine for preconcentration of metal ions, *Journal of Molecular Structure*”, 964, 58–62, 2010.
25. Calero de Hoces, M., Blazquez Garcia G., Ronda Galvez A., “Biosorption of Cu⁺² in a packed bed column by almond shell: optimization of process variables, *Desalin*”, *Water Trea*, 51, 7-9, 1954, 2013.
26. Castro, R.S.D., Caetano, L., Ferreira, G., Padilha, P.M., Saeki, M.J., Zara, L.F., Martines, M. A. U., Castro, G.R., “Banana peel applied to the solid phase extraction of copper and lead from river water: preconcentration of metal ions with a fruit waste. *Ind*”, *Eng. Chem. Res.*, , 50, 3446–3450, 2011.
27. Baytak S., Mert R. and A. Türker R., “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.
28. Zhu, X., Chang, X., Cui, Y., Zou, X., Yang, D., Hu, Z., "Solid-phase extraction of trace Cu(II) Fe(III) and Zn(II) with silica gel modified with curcumin from biological and natural water samples by ICP-OES", *Microchem. J.*, 86, 189, 2007.
 29. Baytak, S., Türker, A. R., Çevrimli, B. S., "Application of silica gel 60 loaded with *Aspergillus niger* as a solid phase extractor for the separation/preconcentration of chromium(III), copper(II), zinc(II) and cadmium(II)", *J. Sep. Sci.*, 2482-2488, 2005.
 30. Xu, H., Wu, Y., Wang, J., Shang, X., Jiang, X., "Simultaneous preconcentration of cadmium and lead in water samples with silica gel and determination by flame atomic absorption spectrometry", *Journal of Environmental Sciences.*, 25, 45-49, 2013.
 31. Pereira, A.S., Ferreira, G., Caetano, L., Martines, M. A. U., Padilha, P.M., Santos, A., Castro, G. R., "Preconcentration and determination of Cu(II) in a fresh water sample using modified silica gel as a solid-phase extraction adsorbent", *J. Hazard. Mater.*, 175 399-403, 2010.
 32. Karatepe, A., Soylak, M., Elçi, L., "Determination of Cu, Fe, and Ni in Spices after Preconcentration on Diaion-HP 20 Resin as Their Zincon Complexes", *Clean-Soil, Air, Water*, 39, 502-507, 2011.
 33. Kara, D., Fisher, A., Hill, S.J., "Comparison of some newly synthesized chemically modified Amberlite XAD-4 resins for the preconcentration and determination of trace elements by flow injection inductively coupled plasma-mass spectrometry" *Analyst*, 131, 1232, 2006.
 34. Baytak, S., Türker, A. R., "Determination of lead and nickel in environmental samples by flame atomic absorption spectrometry after column solid-phase extraction on Ambersorb-572 with EDTA", *J. Hazard. Mater.*, 130-136, 2006.
 35. Karatepe, A., Soylak, Elçi, M., L., "Solid-Phase Extraction of Some Heavy Metal Ions on a Double-Walled Carbon Nanotube Disk and Determination by Flame Atomic Absorption Spectrometry", *J. AOAC Inter.*, 94, 1617-1624, 2011.
 36. Baytak, S., Zereen, F., Arslan, Z., "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.

37. Bakırcıoğlu, Y., Bakırcıoğlu, D., Akman, S., "Biosorption of lead by Filamentous fungal biomass-loaded TiO₂ nanoparticles", *J. Hazard. Mater.*, 178, 1-3, 1015-1020, 2010.
38. Cui, Y., Chang, X., Zhu, X., Jiang, N., Hu, Z., Lian, N., "Nanometer SiO₂ modified with 5-sulfosalicylic acid as selective solid-phase extractant for Fe(III) determination by ICP-AES from biological and natural water samples", *Microchem. J.*, 86, 23-28, 2007.
39. Karadaş, C., Kara, D. , "On-line preconcentration and determination of trace elements in waters and reference cereal materials by flow injection FAAS using newly synthesized 8-hydroxy-2-quinoline carboxaldehyde functionalized Amberlite XAD-4", *J. Food Comp. and Anal.*, 321, 90-98, 2013.
40. Duran, C., Şentürk, H.B., Elçi L., Soylak, M., Tüfekçi, M., "Simultaneous preconcentration of Co(II), Ni(II), Cu(II), and Cd(II) from environmental samples on Amberlite XAD-2000 column and determination by FAAS", *J. Hazard. Mater.*, 162 292-299, 2009.
41. Tokalıoğlu, Ş., Papak, A., Kartal, Ş., "Separation/preconcentration of trace Pb(II) and Cd(II) with 2-mercaptobenzothiazole impregnated Amberlite XAD-1180 resin and their determination by flame atomic absorption spectrometry", *Arab. J. Chem.* DOI:10.1016/j.arabjc.2013.04.017.
42. Baytak, S., "*Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*", 2003.
43. Minczewski, J., Chwastowska, J. And Dybezyński, R., "Separation and preconcentration methods in inorganic trace analysis", Ellis Horwood, New York, 1982.
44. Yavuz, E., Tokalıoğlu, Ş., Şahan, H., Patat, Ş., "A Graphene/Co₃O₄ Nanocomposite As A New Adsorbent For Solid Phase Extraction For Pb(II), Cu(II) and Fe(III) ions in Various Samples", *RSC Advances*, 3, 24650-24657, 2013.
45. Baytak, S. and Arslan, Z., "Solid phase pre-concentration of trace elements from water and tissue samples using a mini column of diphenylcarbazone impregnated nano-TiO₂ for determination by ICP-OES", *Clean- Soil, Water*, Baskıda.
46. Mahan, C. A., Holcombe, J. A., "Immobilization of alga cells on silica gel and their characterization for trace metal preconcentration", *Anal. Chem.*, 64, 1933-1940, 1992.

47. Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., Timur, S., “Metallerin Çevresel Etkileri- I” , *İTÜ Metalurji Mühendisliği*, 2004.
48. Duffus, J. H., “Environmental toxicology”, *Wiley*, New York, 1980.
49. DUMİU, G., “Kirli Su El Kitabı”, Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü, Ankara 1975.
50. Blumenthoi, S., “İnhibition of Na-f-Glucose Contraspport in Kidney Corticel Cells by Cadmium and Copper:Protection by Zinc. *Tox. And App. Pharm*”, 129: 177-187, 1994.
51. Jenkins, K.S., “Effect of Copper Leading of Prenuminant Calves or Intracellular, Disirubition of Hepatic Copper, Zinc, Iron and Molybdenum”., *J.Dairy Sci*, 72: 2346-2350, 1989.
52. Who., Ammonia, “Enviromental Health Criteria”, No.54, Geneva 1996.
53. Grace, N.D., Lee, J., “Effect of Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Sc and Zn Supplementaüion on the Elemental Content of Soft Tissues and Bone in Sheep Grazing Ryegraas a Vhite Clover Pasture”,*J. Agr. Res.*,New Zeland, 33: 635-647, 1990.
54. European Com. DG ENV. E3 Project ENV. E.3/ETU/2000/0058, “Heavy Metals in Waste”, Danimarka, 2002.
55. Karatepe, A., Soylak, M., Elçi, L., “ Determination of Cu, Fe and Ni in spices by FAAS after preconcentration on Diaion-HP 20 resin as their zincon complexes” *Clean-Soil, Air, Water*,39, 502-507, 2011.
56. Guo, Y., Din, B., Liu, Y., Chang, X., Meng, S., Liu, J., “ Preconcentration and determination of trace elements with 2-aminoacetylthiophenol functionalized Amberlite XAD-2 by inductively coupled plasma–atomic emission spectrometry”, *Talanta*, 62 209-215, 2004.
57. Jalbani, N. , Soylak,M. , “Ligandless surfactant mediated solid phase extraction combined with Fe₃O₄ nano-particle for the preconcentration and determination of cadmium and lead in water and soil samples followed by flame atomic absorption spectrometry: Multivariate strategy”, *Ecotoxic. Environ. Safety.*, 102, 174–178, 2014.
58. Zawisza, B. , Skorek,R. , Stankiewicz,G. , Sitko,R., “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.

59. Pourreza, N. , Rastegarzadeh, S. , Larki, A. , “Simultaneous preconcentration of Cd(II), Cu(II) and Pb(II) on Nano-TiO₂ modified with 2-mercaptobenzothiazole prior to flame atomic absorption spectrometric determination”, *J. Indus. Engin. Chem.*, 205, 2680–2686, 2014.
60. Zhang, L. , Li, Z. , Du, X. , Li, R. , Chang, X. , “ Simultaneous separation and preconcentration of Cr(III), Cu(II), Cd(II) and Pb(II) from environmental samples prior to inductively coupled plasma optical emission spectrometric determination”, 86 443-448, 2012.
61. Baytak, S., Türker, A.R., ”Determination of lead and nickel in environmental samples by flame atomic absorption spectrometry after column solid-phase extraction on Ambersorb-572 with EDTA”, *J. Hazard. Mater.*, 129, 130-136 2006.
62. Baytak, S., Balaban, A., Türker, A. R., Erk, B., “Atomic Absorption Spectrometric Determination of Fe(III), And Cr(III) in Various Samples after Preconcentration by Solid Phase Extraction with Pyridine-2-Carbaldehyde Thiosemicarbazone”, *J. Anal. Chem.*, (JAC) , 476-482, 2006.
63. Kocaoba, S. ,Arsoy,M.,“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.
64. Tüzen, M., Saygı, K.O., Usta, C., Soylak, M.,“*Pseudomonas aeruginosa* immobilized multi walled carbon nanotubes as biosorbent for heavy metal ions“, *Bioresource Technol.*, 99, 1563–1570, 2008.
65. Rajfur, M., Kłos, A., Waclawek, M.,“Sorption properties of algae *Spirogyra spartinae* and their use for determination of heavy metal ions concentrations in surface water”, *Bioelectrochemistry.*, 80, 81-86, 2010.
66. Baytak, S., Türker, A. R.,“The use of *Agrobacterium tumefaciens* immobilized on Amberlite XAD-4 as a new biosorbent for the column preconcentration of iron(III), cobalt(II), manganese(II) and chromium(III) ”, *Talanta*, 938-945, 2005.
67. Baytak, S., Kendüzler, E., Türker, A.R., Gök, N.,“*Penicillium digitatum* immobilized on pumice stone as a new solid phase extractor for preconcentration and/or separation of trace metals in environmental samples”, *J. Hazard. Mater.*, 975-983, 2008.

68. Baytak, S., Türker, A.R., “Penicillium digitatum Loaded on Pumice Stone as a Solid Phase Extractor for Preconcentration of Co(II), Fe(III) and Ni(II) ”, *Current Anal. Chem.*, 146-156, 2011.
69. Baytak, S., Türker, A. R., “Determination of Chromium, Cadmium and Manganese in Water and Fish Samples After Preconcentration Using Penicillium digitatum Immobilized on Pumice Stone”, *CLEAN- Soil, Air, Water* , 314-318, 2009.
70. Bilgehan, H., “Genel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi”, *Bilgehan Basımevi*, İzmir, 1983.
71. Unat, E.K, “Temel Mikrobiyoloji, İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. Yayınları”, *Yayın No: 207, İ.Ü Basımevi*, İstanbul, 1997.
72. Kılıç, E. ve Yılmaz, Berkem, H.,“Enstrümental Analiz ilkeleri”, *6. Baskı Bilim Yayınları*, Ankara, 2013.

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılı Kocaeli İli,Gebze İlçesinde doğdu. İlkokulu, Kazım Karabekir İlköğretim Okulu'nda okudu. Orta Öğrenimini Gebze Neşet Yalçın Süper Lisesi'sinde tamamladı. 2008 Yılında Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi,Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde eğitim-öğretime başladı. 2012-2013 yılında bölüm üçüncüsü olarak mezun oldu. Aynı yıl Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Eğitim Fakültesi'nde Pedagojik Formasyon Eğitim Sertifikası aldı ve Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi'nde, Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Kimya Ana Bilim Dalı'nda Yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.

Adres: Kazım Karabekir Mah. Mevlana Cad. Evliya Çelebi Sok. No : 1 / 2
Kocaeli / GEBZE
Telefon: 0262 655 78 62
e-posta : ebru385050@gmail.com.tr.