

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PEPTİT BAĞLI ALTIN NANOPARÇACIKLAR KULLANARAK BAZI ESER
ELEMENTLERİN AYRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gizem GEDİK

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

Haziran 2013

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PEPTİT BAĞLI ALTIN NANOPARÇACIKLAR KULLANARAK BAZI ESER
ELEMENTLERİN AYRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Gizem GEDİK
509111017**

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Süleyman AKMAN

Haziran 2013

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Süleyman AKMAN**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Doç. Dr. Mustafa ÖZCAN**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN
İstanbul Üniversitesi

iii

ÖNSÖZ

Çalışmalarım sırasında her zaman yakın ilgi ve desteğini gördüğüm tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Süleyman AKMAN'a sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim. Çalışmalarımızda kullandığımız; Peptit bağlı altın nanoparçacık adsorbanları temin eden ve yüksek lisans tezim boyunca benden yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Aslı BAYSAL'a, deneylerim sırasında ihtiyacım olduğu her zaman yardımlarını gördüğüm hocam Sayın Arş. Görevlisi Sema GÜNDÜZ IŞIK'a ve laboratuvar arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım sırasında desteklerini her zaman yanımda hissettiğim ilk öğretmenlerim, eğitimci ailem sevgili annem Birgül GEDİK'e, sevgili babam Turan GEDİK'e ve sevgili arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim.

Mayıs 2013

Gizem Gedik
Kimyager

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER	viii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xiii
ÖZET.....	xv
SUMMARY	xix
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROSKOPİSİ.....	3
2.1 Tarihçe.....	3
2.2 Absorpsiyonun Temel Kuralları.....	4
2.3 Atomik Spektrum ve Hat Genişlemesi.....	5
2.3.1 Tabii hat genişlemesi	5
2.3.2 Doppler genişlemesi.....	6
2.3.3 Basınç genişlemesi	7
2.3.4 İnce yapı genişlemesi	7
2.4 Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (AAS).....	8
2.4.1 Işık kaynakları	8
2.4.1.1 Oyuk katot lambaları	9
2.4.1.2 Elektrotsuz boşalım lambaları	10
2.4.1.3 Yüksek ışımalı lambalar.....	11
2.4.1.4 Buhar boşalım lambaları	12
2.4.1.5 Sürekli ışık kaynakları.....	12
2.4.2 Atomlaştırmacılar.....	12
2.4.2.1 Alevli atomlaştırmacılar (FAAS).....	13
2.4.2.2 Elektrotermal atomlaştırmacılar (ETAAS)	Error! Bookmark not defined.
2.4.3 Monokromatörler	22
2.4.4 Dedektörler.....	23
2.5 Atomik Absorpsiyon Spektrometrisinde Kantitatif Analiz	24
2.5.1 Lineer kalibrasyon yöntemi.....	24
2.5.2 Standart ekleme yöntemi.....	24
2.6 Girişimler	25
2.6.1 Spektral girişimler ve düzeltilmeleri	25
2.6.1.1 Çift hat yöntemi.....	27
2.6.1.2 Self absorpsiyonla zemin düzeltme yöntemi	28

2.6.1.3 Sürekli ışın kaynaklı zemin düzeltme yöntemi	28
2.6.1.4 Zeeman etkili zemin düzeltme yöntemi	29
2.6.2 Spektral olmayan girişimler	33
3. AĞIR METAL GİDERİMİNDE BİYOSORPSİYON YÖNTEMİ	35
3.1 Adsorpsiyon.....	35
3.2 Adsorpsiyonun Sınıflandırılması.....	35
3.2.1 Fiziksel adsorpsiyon	36
3.2.2 Kimyasal adsorpsiyon	36
3.2.3 İyonik adsorpsiyon	36
3.3 Adsorplayıcı Katılar	37
3.4 Adsorpsiyona Etki Eden Faktörler	37
3.4.1 pH	37
3.4.2 Sıcaklık	37
3.4.3 Yüzey alanı	37
3.4.4 Adsorplanan madde ve çözücünün özellikleri.....	38
3.5 Adsorpsiyon Uygulamaları.....	38
3.6 Biyosorpsiyon.....	39
3.6.1 Biyosorbent dış yüzey özellikleri	41
3.6.2 Biyosorpsiyon mekanizmaları	41
3.6.3 Biyosorpsiyonu etkileyen faktörler	43
3.6.4 Biyosorpsiyonun diğer ağır metal giderim metodlarıyla karşılaştırılması	45
4. PEPTİT BAĞLI AuNP HAKKINDA BİLGİ	47
4.1 Au'ların Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu	47
4.2 Peptitlerin AuNP'lara Kovalent Bağlanması	48
5. DENEYSEL KISIM	53
5.1 Kullanılan Cihazlar.....	53
5.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	54
5.3 Deneyin Yapılışı	54
6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	57
6.1 DeneySEL Şartların Adsorpsiyon Üzerine Etkisi	57
6.1.1 pH etkisi	57
6.1.2 Sorbent miktarının etkisi	59
6.1.3 Metal konsantrasyonunun adsorpsiyon üzerine olan etkisi	62
6.2 Metod Validasyonu	64
6.3 Tartışma.....	67
KAYNAKLAR.....	69
ÖZGEÇMİŞ	73

KISALTMALAR

AAS	: Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi
FAAS	: Alevli Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi
GFAAS	: Grafit Fırınlı Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi
AuNP	: Altın Nanoparçacık
UV/Vis	: Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopisi
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu
DLS	: Dinamik Işık Saçılması
LOD	: Tayin Sınırı
LOQ	: Tespit Sınırı
Cys/C	: Sistein Aminoasidi
Ser/S	: Serin Aminoasidi
Glu/E	: Glütamik Asit Aminoasidi
Asp/D	: Aspartik Asit Aminoasidi
Cu	: Bakır
Co	: Kobalt
Cr	: Krom
Pb	: Kurşun
Cd	: Kadmiyum
ppm	: Milyonda bir birim
ppb	: Milyarda bir birim

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1: Atomik spektroskopide kullanılan bazı alev türleri. ...**Error! Bookmark not defined.**

Çizelge 4.1: Çalışmada kullanılan peptidlerin harf kodları (C, Cys; S, Se; Glu, E; Asp, D) 50

Çizelge 5.1: Cr, Cd, Cu, Pb ve Co lambaların kullanılan akım değerleri, dalga boyu. ve slit aralığı 53

Çizelge 5.2: Grafit fırın programı 54

Çizelge 6.1: (a)P1, (b)P16 ve (c)P20 kodlu peptitler ile kaplanmış altın nanoparçacıklar kullanarak deniz ve musluk suyu örneklerinde Cu, Co, Cr, Cd, Pb geri kazanım yüzdeleri. 64

Çizelge 6.2: (a)P1, (b)P16 ve (c)P20 harf koduna sahip peptitler ile kaplanmış altın nanoparçacıklar kullanılarak geliştirilen methodun özellikleri..... 66

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: Tek ışın yollu (a) ve çift ışın yollu (b) AAS cihazlarının şematik gösterimi	8
Şekil 2.2: Oyuk katot lambasının yapısı	9
Şekil 2.3: Elektrotsuz boşalım lambasının yapısı.	11
Şekil 2.4: Genel bir alev atomlaştırıcı	13
Şekil 2.5: Alevde atomlaştırma sırasında oluşan süreçler.	14
Şekil 2.6: Ön-karıştırmasız yakıcı	17
Şekil 2.7: Ön-karıştırmalı yakıcı.....	18
Şekil 2.8: Grafit tüplü bir fırının basit şeması.	19
Şekil 2.9: Massman fırını.....	20
Şekil 2.10: a) Grafit tüp b) Tek oyuklu L'vov platform c) Çift oyuklu L'vov platform	20
Şekil 2.11: Sürekli ışın kaynaklı zemin düzeltici bir atomik spektrofotometresinin şematik gösterimi.	28
Şekil 2.12: Döteryum lambası (D ₂) ile zemin engellemelerinin düzeltilmesi	29
Şekil 2.13: Manyetik alanda spektral bir hattın normal Zeeman etkisi yarılması.	30
Şekil 2.14: Işın kaynağına manyetik alanın uygulandığı Zeeman AAS tekniği.....	31
Şekil 2.15: Zeeman etkili cihazların genel şematik gösterimi (a) Işın kaynağına manyetik alanın uygulanışı (b) Atomlaştırıcıya manyetik alanın uygulanışı.	32
Şekil 3.1: Biyosorpsiyon mekanizmaları (a) Hücre metabolizmasına bağlı olup olmadıklarına göre (b) Metalin giderileceği yere göre	42
Şekil 4.1: Hazırlanan farklı büyüklüklerdeki AuNP içeren süspansiyonların NP büyüklüğüne bağlı renk değişimi	47
Şekil 4.2: Negatif peptitler ile işlevselleştirilmiş AuNP'ların süspansiyonlarının UV/Vis spektrumları (A), DLS spektrumları (B)	49
Şekil 4.3: Bazı peptitlerle AuNP'ların işlevselleştirilmiş hallerinin temsilen gösterilmeleri.....	50
Şekil 4.4: Peptit bağlı altın nanopartikülün sulu çözeltide biyosorpsiyonunun şematik diyagramı	51
Şekil 5.1: Eser element analizi için genel prosedür	56
Şekil 6.1: pH'ın (a)Cr, (b) Cd, (c) Cu, (d)Pb ve (e)Co analit elementlerinin tutunmasına etkisi (10 µg/L analit, örnek hacmi: 3 mL, sorbent hacmi 5 mL).....	59
Şekil 6.2: Sorbent miktarının (a)Cr, (b) Cd, (c) Cu, (d)Pb ve (e)Co analit elementleri üzerine etkisi	61
Şekil 6.3: a)Cr, (b) Cd, (c) Cu, (d)Pb ve (e)Co analit miktarının adsorpsiyon üzerine etkisi	63

PEPTİT BAĞLI ALTIN NANOPARÇACIKLAR KULLANARAK BAZI ESER ELEMENTLERİN AYRILMASI

ÖZET

Endüstriyel faaliyetler sonrasında açığa çıkan atıklar ve atıksuların çoğu ağır metal içermektedir. Ağır metaller, yerüstü ve yeraltı sularına karışmaları ve canlılar üzerinde oluşturdıkları potansiyel riskler nedeniyle son yıllarda önemli bir konu haline gelmiştir. Ağır metaller, biyolojik olarak bozundurulamazlar ve canlı organizmasında birikmeye meyillidirler. Ağır metallerin bir kısmı yaşamsal faaliyetler için belirli konsantrasyonlarda gerekli olmalarına rağmen, yüksek konsantrasyonlarda çeşitli toksik özellik gösterirler.

Ağır metalleri atıksulardan uzaklaştırmak için kullanılan iyon değişimi, çökeltim, elektrokimyasal ve membran prosesleri, aktif karbon adsorpsiyonu, buharlaştırma ve solvent ekstraksiyon metotları gibi konvansiyonel yöntemler yüksek ilk yatırım ve işletim maliyetlerine sahiptirler. Bu yüzden ağır metalleri atıksudan uzaklaştırmak için son zamanlarda biyosorpsiyon prosesleri geliştirme çalışmalarına hız verilmiştir. Biyosorpsiyon prosesleri; biyolojik madde kullanılarak atıksuda bulunan ağır metallerin adsorbe edilmesi işlemidir. Bu proseslerde uygun biyomas kullanılması durumunda yukarıda belirtilen diğer yöntemlerden daha ucuz bir prosestir. Ayrıca işletimi bu proseslere göre daha kolaydır.

Biyosorpsiyonda sorbent olarak kullanılan malzemeye biyosorbent denmektedir. Biyokütle kaynakları olarak endüstriyel atıklar, doğada çok miktarda bulunan organizmalar, hızlı büyüyen, yetiştirilebilen veya biyosorpsiyon amaçlı üretilen organizmalar kullanılabilir. Biyosorpsiyon ile metallerin ayrılması hücre duvarı ile metal arasında etkileşimin sonucudur. Metal iyonları hücre yüzeyindeki negatif yüklü reaksiyon alanları ile kompleks yaparak ve/veya pozitif yüklü reaksiyon alanları ile yer değiştirerek ve/veya proteinlerin peptit bağlarının azot ve oksijeni ile yer değiştirerek adsorplanabilecekleri gibi bazı mikroorganizmalar hücrelerin dış zarlarından uzanan polimerler sentezleyerek çözüldükten metal iyonlarını bağlayabilirler. Literatürde pek çok çalışmada ölü bakteri, mantar ve alg yüzeyinde ağır metallerin tutulduğu belirlenmiştir. Mikroorganizmaların üreme ve metali bağlamada ortam koşullarının aynı olmaması, ayrıca metal derişimlerinin çok yüksek olduğu veya metal iyonlarının önemli miktarlarının mikroorganizma tarafından adsorbe (ve az miktarda absorbe) edildiği zaman, mikroorganizma üremesinin inhibe oluşu, canlı sistemlerle çalışmada önemli kısıtlamalar getirmektedir. Bu sebeplerle ölü mikroorganizmaların metal adsorpsiyonunda kullanımı düşünülmüş, yaşamayan biyokütlenin yaşayan hücrelerinden daha fazla miktarda metali adsorpladığı gözlenmiştir. Cansız biyosorbentlerin kullanımının sağladığı avantajlar;

Biyokütle büyümesi gerekmez: Cansız biyokütle maddenin toksik etkisinden etkilenmediği gibi üreme problemi olmadığından ek kaynaklara da ihtiyaç duymaz.

Kısa muamele zamanı: Cansız biyokütleler metal iyonlarını hızlıca adsorbe ederler. İşlem birkaç dakikadan birkaç saate kadar süre gerektirebilir.

Geniş (esnek) operasyon koşulları: Biyosorbentlerin hücrelerinin cansız olmasından dolayı, uygulama şartları hücrelerin üremesi/büyümesinin sürekliliği için gerekli olan şartlar ile kısıtlanmaz. Diğer bir deyişle pH, sıcaklık ve metal konsantrasyonları gibi uygulama parametrelerinin geniş bir çeşitliliği mümkündür.

Daha fazla muameleyi gerektirmez: Geri kazanılan metal iyonlarının değeri ve miktarı şayet önemsizse ve biyosorbent bolsa metal yüklü metali tutmuş biyosorbent doğrudan yakılabilir. Bu yüzden doymuş biyosorbentlerin rejenerasyonu gerekli değildir.

Son yıllarda ağır metal giderimi için düşük maliyetli biyosorbentler geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır. Bu çalışmanın amacı, ağır metal giderimi için ucuz ve verimli biyolojik çözümler üretmektir. Bu amaçla çalışmamızda, yoğun kullanımlarına bağlı olarak, çevre kirliliğinin önemli bir kısmını oluşturan ağır metallerden bakır, kadmiyum, kobalt, krom ve kurşun çalışılmıştır. Aynı zamanda, bilimsel literatürde bu açıdan eksikliğin tamamlanması hedeflenmiştir. Peptitler NP'ların yüzey kimyasal özelliklerini sistematik olarak değiştirmek için mükemmel yapılardır. Cys, Ser, Glu ve Asp amino asitlerin değişik şekillerde dizilimlerinden oluşan negatif yüklü P1, P16 ve P20 harf koduna sahip peptitlerin AuNP ile kovalent bağlanması Cys amino asiti ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan peptitler sırasıyla 3, 15 ve 21 amino asitten oluşmaktadır. Amino asit sayısı arttıkça taşıdıkları yük sayısı da artmaktadır ve her amino asittin alkil grubunda bir yük bulunması nedeniyle yük artışıyla moleküler büyüklükte artmaktadır. P1 kodlu peptit kısa ve az sayıda yük (-1) içerirken P16 ve P20 kodlu peptitler daha uzun ve pH 7'de daha çok sayıda negatif yük (sırasıyla -8 ve -10) taşımaktadır. Negatif peptitlerle işlevselleştirilmiş AuNP'ların bulunduğu süspansiyonlar oldukça kararlı ve AuNP-peptit yapılar süspansiyon içerisinde çok iyi dağılmaktadırlar. Bu gözlem peptit büyüklüğünden ve taşıdığı yükten bağımsız gözükmektedir. P1, P16 ve P20 kodlu peptitler negatif yüklü peptitler olduğundan pozitif yüklü metal iyonlarını bağlama yeteneğine sahiptirler.

Adsorpsiyon deneyleri için laboratuvar ortamında hazırlanan model Cu, Pb, Co, Cd, ve Cr çözeltilerindeki ağır metallerin bu malzemeler üzerindeki adsorpsiyonu Grafit Fırınlı Atomik Adsorpsiyon Spektrofotometresi (GFAAS) ile incelenmiştir. Bu kapsamda peptit bağlı altın nanoparçacıkların biyosorpsiyon kapasitesini ortaya koymak için gerçekleştirilen biyosorpsiyon sürecinde optimum pH, metal başlangıç konsantrasyonu, gerekli biyokütle miktarı kısaca en uygun ön işlem metodu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, her bir analit elementi için farklı boyutlardaki peptit bağlı Au NP dan oluşan sorbentlere tutunmasında pH>7 de kantitatif tutunma (>%95) elde edilmiştir. Biyosorpsiyon olayında özellikle pH kritik bir parametredir. Bundan sonraki optimizasyon çalışmalarının pH 7'de gerçekleşmesi uygun görülmüştür. En uygun ön işlem koşullarına;

- P1@Au için pH 7 değerinde 1 mL biyosorbent ve 50 µg/L metal konsantrasyonu,
- P16@Au için pH 7 değerinde 1 mL biyosorbent ve 50 µg/L metal konsantrasyonu,
- P20@Au için pH 7 değerinde 5 mL biyosorbent ve 50 µg/L metal konsantrasyonu varlığında ulaşılmıştır.

Her bir element için belirlenen ön işlem methodu kullanıldığında %100 tutunma sağlanmıştır ve peptitin uzunluğu arttıkça sorbent kapasitesinin arttığı gözlenmiştir.

Standart ekleme metodu ile optimize edilen metodun validasyonu deniz suyu ve çeşme suyu örneklerinde yapılmıştır ve %95 güven aralığında sonuçlar elde edilmiştir. Geliştirilen yöntemin gözlenebilme sınırının tayini için 10 paralel kör örneğe geliştirilen yöntem uygulandı. GFAAS ile tayin edilebilecek en düşük derişimler (LOQ) blank çözeltisinin standart sapmasının 10 katı, gözlenebilme sınırı ise (LOD) 3 katı olarak verilmiştir. Kullanılan peptitin boyu arttıkça yükleme kapasitesi artmakta iken dedeksiyon limitleri düşmekte olduğu sonucuna varılmıştır.

P1, P16 ve P20 bağlı altın nanoparçacıkların alternatif biyosorbent olarak kullanılması; Elde edilmesi için düşük maliyet gerektirmesi, cansız biyosorbent olduğu için, ağır metallerin toksik etkisinden olumsuz yönde etkilenmemesi, canlı biyosorbentler için önemli bir dezavantaj oluşturan kültür koşullarının optimize edilmesine ihtiyaç göstermemesi, canlı biyosorbentlere göre daha kısa sürede metalleri adsorblayabilmesi, adsorpsiyon kapasitesinin yüksek olması avantajlarından dolayı uygun görülmüştür.

SEPARATION OF SOME TRACE ELEMENTS USING PEPTIDE BOUND GOLD NANOPARTICLES

SUMMARY

Most of waste and wastewater resulting from industrial activities include heavy metals. Heavy metals have become a major subject because of their potential risks on living organisms and to contaminate ground and underground water. Heavy metals are not biodegradable and tend to accumulate in living organisms. Although some of these metals are essential for vital functions in trace concentrations, higher concentrations have various toxic effects.

Conventional technologies including ion exchange, precipitation, electrochemical and membrane processes, activated carbon adsorption, evaporation and solvent extraction used for heavy metals removal from wastewaters all have relatively high capital and operation costs. Therefore, to remove heavy metals from wastewaters, developments in biosorption processes have recently gained speed. Biosorption process is the adsorptive removal of heavy metals from wastewaters using dead biological substances, i.e., dead biomass. Biosorption is a cost-effective and easy-to-operate process compared with conventional ones as long as the proper biomass is employed.

Biosorbent is called the material used as a sorbent for biosorption process. A source of industrial wastes in large quantities in nature, organisms, fast-growing, bred or organisms produced can be used as biomass for biosorption. Biosorption is the result of the interaction of the metal with the cell wall in order to separate the metal ions.

Metal ions can be sorbed in the following ways;

- Complexes with the negatively charged cell surface by reaction areas,
- Partial substitution of the positively charged areas of the reaction,
- Partial substitution of the nitrogen and oxygen in the peptide bonds in proteins.

Furthermore, extending from the outer membranes of the cells of microorganisms synthesize polymers can connect metal ions in solution.

It is found in many studies in the literature that heavy metals are removed through adsorption onto the surfaces of lifeless bacteria, fungus and algae.

Reproduction of microorganisms and environmental conditions are not the same metal binding, when either there is a very high metal concentrations or it is of significant amounts of metal ions by the microorganism sorbed can inhibit the growth of micro-organisms.

The absence of metal binding environmental conditions and reproduction of microorganisms, as well as very high concentrations of metal or of metal ions adsorbed by significant amounts of microorganisms (and a small amount absorbed) when it is, the fact that inhibition of microbial growth in.

In brief, living systems study has significant limitations. For these reasons, the lifeless microorganisms are thought for using of metal sorption, the cells of lifeless biomass were observed in a greater amount of sorption capacity than living biomass. The advantages of the use of lifeless sorbents;

The growth of biomass is not required: Lifeless biomass is not affected by the toxic effect of the substance and does not need the additional resources due to the fact that lifeless sorbents do not have reproductive problems.

Short treatment time: Metal ions are sorbed on lifeless biomass rapidly. Period of time may require from several minutes to several hours.

Flexible operating conditions: Due to sluggish cells of sorbents, the application conditions are not restricted by the conditions necessary for the continuity for growth of cells. A wide variety of application parameters such as pH, temperature and metal concentrations are possible.

Further treatment is not required: If both the amount and the value of the recovered metal ions are insignificant and you have plenty of biosorbent, it can be burned directly. Therefore, saturated sorbents regeneration is not needed.

In recent years, development on the low-cost sorbents for the removal of heavy metals has accelerated.

The development of low-cost sorbents for the removal of heavy metals has gained speed in recent years.

The purpose of this study, producing cheap and efficient biological solutions for the removal of heavy metals. For this purpose, in our study, forming a significant portion of environmental pollution due to intensive using of copper, cadmium, cobalt, chromium and lead were studied. At the same time, the deficiency in this respect is planned to complete the scientific literature. Peptides are perfect structures for a systematic change in the chemical properties of NP's surface. P1, P16 and P20 peptides contain different forming sequences of negatively charged amino acids of Cys, Ser, Glu and Asp covalent binding was carried out with Cys on AuNP surface. P1, P16 and P20 coded peptides consist of 3, 15 and 21 amino acids, respectively. Carrying loads of aminoacids are growing with the number of aminoacids and molecular size is growing with increasing load due to the fact that the presence of a load of alkyl group of each amino acid. P1 coded peptide is short and contains few load (-1) while P16 and P20 coded peptides are longer and consist of a larger number of negative charge at pH 7 (-8 and -10, respectively). AuNP-peptide structures which are functionalized on negative peptides on AuNP's are quite stable and very good dispersed in suspension. This observation appears to be independent of the quality of peptide, such as the load carried and the size. These synthetic peptides are capable of positively charged metal ions to sorbet way of negatively charges.

The sorption of heavy metals from synthetic Cu, Pb, Co, Cd, and Cr solutions prepared in the laboratory, on these materials (P1@Au, P16@Au and P20@Au), were examined by Graphite Furnace Atomic Adsorption Spectrophotometer (GFAAS) for sorption experiments. In this context, for determining biosorption capacity of gold nanoparticles bound peptide molecules; an optimum pH, the initial concentration of the metal, the required amount of biomass briefly the best pre-treatment method was determined for biosorption process.

Analyte solutions of pH 4-10 set of 10 mL tubes and centrifuged at 6.000 rpm for 20 minutes from upper of sorption solutions GFAAS, including the rest of the analyte concentrations were read. The optimum pH of the solution at room temperature in the previous step adjusted by 0.01 M NaOH 0.01 M HCl, 20 minutes centrifugation at 6.000 rpm, tubes were then read by GFAAS, including the concentration of metal ions in solution. For each metal 50-500 g / L range, solutions were prepared. For each adsorber, from solutions of different concentrations are prepared by adding 3 mL at room temperature with the optimum pH value, following centrifugation for 20 minutes at 6.000 rpm the upper phase solutions were read GFAAS, including analyte concentrations. After optimizing the method, detection limit (LOD) and the lowest concentrations to be determined (LOQ) were identified. The real sea water samples taken from different parts of the Sea of Marmara and Istanbul and tap water samples were measured for validation experiments.

Consequently, at pH > 7 the quantitative retention (> 95%) was obtained for each analyte element binding to different sizes of peptide bound AuNP sorbents. pH is a critical parameter especially in the case of biosorption. The realization of the next optimization work was approved at pH 7. The best pre-treatment conditions;

- At the pH value of 7 with 1 mL biosorbent and 50 ppb metal concentration for P1@Au,
- At the pH value of 7 with 1 mL biosorbent and 50 ppb metal concentration for P16@Au,
- At the pH value of 7 with 5 mL biosorbent and 50 ppb metal concentration for P20@Au.

Adsorption capacity of three peptide-AuNP's reached to the maximum at pH 7.0. Both the sorbent and metal loading capacities of peptide bound gold nanoparticles increased with growing peptide chain while detection limits were decreased.

P1, P16, and P20-coded gold nanoparticles require low-cost to obtain, are not adversely affected by the toxic effects of heavy metals due to being lifeless biosorbent, optimizing the culture conditions is not needed, both the less adsorption time and the higher adsorption capacity of metal sorption compared to living biosorbents for using P1, P16, P20 nanoparticles as alternative biosorbents deemed appropriate because of these advantages.

The experimental results indicated that the peptide bound gold nanoparticles are very promising for Cu, Cd, Co, Cr and Pb removal from water.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Düzensiz şehirleşme, kontrolsüz nüfus artışı ve endüstrinin plansız gelişmesi sonucunda açığa çıkan ve kirliliğe neden olan maddelere *atık* denir. Bu atıklar, fiziksel, kimyasal, bakteriyolojik özellikleri olan, girdikleri ortamın özelliklerini bozarak değişime uğratan katı, sıvı, gaz halindeki maddeler olarak tanımlanır. Sınıflandırılmaları ne olursa olsun, aralarında solunum, sindirim veya deri absorpsiyonu ile canlı bünyesine giren ve dışarı atılamayarak girdiği ortamda birikerek uzun sürede kronik toksisite ve kanserojen etki gösteren, biyolojik arıtmaya karşı dirençli olan, yeraltı ve yüzeysel suları kirletmemeleri için kesin önlem alınması gereken atıklar ise *tehlikeli ve zararlı atıklar* sınıfındadır. Bu sınıfa girenler arasında toksisitenin asıl kaynağının ağır metaller olduğu belirtilmektedir.

Suda bulunabilecek her türlü madde belirli bir derişim üzerinde sağlık için zararlıdır. Zehirlilik etkisine sahip maddeler düşük derişimlerde bulunmaları halinde bile insan sağlığına zarar vererek hastalıklara ve hatta ölümlere neden olabilirler. Eser miktarda bile sakıncalı olan bu maddeler arasında en önemli grubu ağır metaller diye adlandırılan Co, Cu, Pb, Cd ve Cr gibi elementler oluşturur.

Atık sularda bulunabilecek ağır metaller, organik bileşikler gibi biyolojik olarak bozundurulamazlar. Bazı ağır metallerin yaygın kullanımları onların atıksu içerisinde istenmeyen derişimlerde olmasına yol açar. Çeşitli endüstrilerin atık sularında bünyesinde yüksek miktarda bulunan bu ağır metaller “öncelikli kirleticiler” listelerinde yer almaktadır.

Ağır metallerin giderim teknolojilerinde önemli gelişmeler olmuştur. Çökeltim, iyon değiştirme, elektrokimyasal süreçler ve membran prosesleri, endüstriyel atıksuların arıtımında yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Ancak bu proseslerin uygulamasında teknik ve ekonomik yönden zorluklar olabilmektedir. Bu nedenle, atıksulardan özellikle toksik metalleri giderilmesi amacıyla teknolojik yönden yeni araştırmalar yapılmış ve bunun sonucunda biosorpsiyon prosesleri uygulama alanına girmeye başlamıştır. Konvansiyonel proseslere alternatif gibi görünen biyosorpsiyon

zerindeki alışmalar, halen büyük ölçüde laboratuvar leēinde sürdürülmektedir. Biyosorpsiyon, deēiřik biyolojik materyallerin metal baēlama kapasitesinden ve Vander Waals kuvvetlerinden yararlanmayı esas alan bir prosestir. Alg, bakteri, mantar gibi organizmaların gerek kendilerinin ve gerekse katabolik ürünlerinin olası metal baēlayıcıları olduēu tespit edilmiştir. Son yıllarda atık biyoktlelerle biyosorpsiyon çalışmalarına başlanmış olup literatürde saf kültürle yapılmış pek çok çalışma mevcuttur. Laboratuvarda sentezlenen peptit baēlı nanopartiküllerin biyosorpsiyon proseslerinde kullanımına ise son yıllarda başlanılmış ve bu konuda çalışmalar devam etmektedir.

Bu çalışmada, sorbent olarak nano boyutta Au ile baēlanmış peptit baēlı nanomalzemelerin, metal iyonlarını baēlamaları GFAAS ile tayini amaçlanmıştır. Bu nedenle öncelikle nanoboyutta Au baēlı peptitler sentezlenmiş, bunların metal iyonlarının tutabildiēi optimum pH, sorbent miktarı, metal konsantrasyonu gibi deēiřkenler ve miktarları taranıp yöntem optimize edilmiştir. Deney koşullarının optimizasyonu ile gerçek örneklerde (Marmara Denizi'nden toplanan deniz suyu ve musluk suyu) uygulanabilirliēi araştırılmıştır.

2. ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROSKOPİSİ

2.1. Tarihçe

Atomik spektroskopi 70 kadar metal ve yarımetalın eser miktarlarının analizinde kullanılan elektromanyetik ışının atomlar tarafından absorplanması prensibine dayanan bir metottur [1, 2]. Atomik absorpsiyon spektroskopisinde analiz elementi elementel hale dönüştürüldükten sonra buharlaştırılır ve kaynaktan gelen ışın demetine maruz bırakılır. Aynı elementin ışın kaynağından (OKL) gelen ışınları absorplar. Bu şekilde 70 kadar metal/yarı metalin analizi yapılabilir [3].

Atomik absorpsiyon spektroskopisinin teorisi ilk olarak yirminci yüzyılın başlarında çeşitli fizikçiler ve astrofizikçiler tarafından ortaya atılmıştır. 1955 yılında Avustralya'da Walsh [4] tarafından oyuk katot lambasının icat edilmesiyle atomik absorpsiyon spektrofotometresi analitik amaçlarla kullanılmaya başlanmıştır. Aynı yıl Hollanda'da Alkemade ve Milatz tarafından eser element analizleri için atomik absorpsiyon spektroskopisinin uygun bir yöntem olduğu ileri sürülmüştür [5,6]. 1960 yılında ticari aletler piyasaya çıkmıştır. İlk çıkan aletlerde atomlaştırıcı kaynağı alevdir. Grafit fırınlı atomik absorpsiyon ölçümleri ise önce L'vov ve daha sonra da Massmann'ın çalışmalarından sonra başlamıştır. Atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS) ametallerin analizi ve kalitatif analiz için uygun değildir. Ametallerin, hava bileşenlerinin (N_2O_2) ışını absorpladığı vakum UCV (< 200 nm) bölgede rezonans absorbansı vermesi sebebiyle AAS ile analizleri yapılamamaktadır. Bu metodun her element için ayrı bir ışın kaynağına ihtiyaç duyması ve her seferinde enstrümantal koşulların ayarlanması gereksinimi sebebiyle kalitatif analiz yapılması laboratuarda bulunan lamba sayısı ile kısıtlı, zaman alıcı bir işlem haline gelmektedir. Diğer emisyon teknikleriyle karşılaştırıldığında bu AAS metodunun en önemli dezavantajıdır. Günümüzde, sürekli ışın kaynaklı AAS (CS AAS) cihazı geliştirilmiştir. Böylece çok sayıda farklı ışık kaynaklarına ihtiyaç duyulmaksızın, çok hızlı ve seri olarak çoklu element analizi gerçekleştirilir. Atomik absorpsiyon spektroskopisi eser elementlerin tayini için kullanılan en yaygın yöntemlerden

biridir. Atomik absorpsiyon spektrometresi, biyolojik, klinik ve çevre araştırma laboratuvarlarında kullanılmaktadır. Cihazın kullanımı pek çok cihaza nazaran daha kolaydır [7].

2.2 Absorpsiyonun Temel Kuralları

Kuantum teorisine göre $h\nu$ enerjili bir foton atom tarafından absorplanırsa atomun temel seviyesindeki değerlik elektronu uyarılır ve enerjisi daha büyük olan kararsız uyarılmış temel seviyeye geçer. İki enerji seviyesi arasındaki bu geçiş 1900 yılında Planck tarafından aşağıdaki eşitlikle ifade edilmiştir:

$$\Delta E = E_i - E_o = h\nu = hc/\lambda \quad (2.1)$$

E_i = Elektronun uyarılmış seviyedeki enerjisi

E_o = Elektronun temel seviyedeki enerjisi

h =Planck sabiti

ν =Absorplanan ışının frekansı

c =Işın hızı

λ =Absorplanan ışının dalgaboyu

Buna göre bir atomun absorpsiyon yapması için temel ve uyarılmış seviyeler arasındaki enerji farkına eşit olan enerjiye sahip bir ışın ile karşılaşması gerekir. 1760 yılında Lambert homojen bir ortamdan geçen ışın miktarının ışının geçtiği tabaka kalınlığına (d) bağlı olduğunu, buna karşılık ortamı terkeden ışının şiddetinin (I) gelen ışının şiddetine (I_o) oranının ışın şiddetinden bağımsız olduğunu bulmuştur [5].

$$I = I_o \cdot e^{-xd} \quad (2.2)$$

x ışının ortam içerisinde absorplanmasının bir ölçüsü olup absorpsiyon faktörü olarak tanımlanır ve konsantrasyon ile orantılıdır.

$$x = k \cdot c \quad (2.3)$$

k = Orantı sabiti

Lambert yasası, Beer tarafından günümüzde kullanılan şekline dönüştürülmüştür:

$$A = \log I_o/I = k \cdot c \cdot d \quad (2.4)$$

A =Absorbans

I_0 =Gelen ışının şiddeti

I =Ortamı terkeden ışının şiddeti

k =Absorpsiyon katsayısı (Absorplayan maddenin cinsine ve dalga boyuna bağlıdır.)

c =Absorplanan maddenin konsantrasyonu

d =Işının geçtiği tabakanın kalınlığı

2.3 Atomik Spektrum ve Hat Genişlemesi

Planck eşitliğine göre (2.1) bir atom tarafından sadece iki enerji seviyesi arasındaki farka karşı gelen belirli dalga boyundaki ışınlar absorplanabilir ve absorpsiyon sonucunda atom yüksek enerjili (uyarılmış) hale geçer. Tekrar düşük enerjili yani temel hale dönerken absorpladığı enerjiyi genellikle ışın şeklinde geri verir [8].

Atomların (veya moleküllerin) termal ya da elektriksel olarak uyarılması sonucu absorplanan enerjinin ışın şeklinde geri verilmesine emisyon adı verilir. Eğer atomlar (veya moleküller) ışın tarafından uyarılacak olursa yapılan emisyon floresans olarak adlandırılır. Atomlar yalnızca belirli enerji seviyelerine sahip olduklarından atomik absorpsiyon ve emisyon spektrumları kesiklidir. Ancak atomik absorpsiyon hatları monokromatik değildir ve belirli bir hat genişliğine sahiptir. Atomik absorpsiyon hatlarının genişlemesine etki eden faktörler şu şekilde sıralanabilir [8]:

- 1) Tabii (Doğal) hat genişlemesi
- 2) Doppler genişlemesi
- 3) Basınç genişlemesi
- 4) İnce yapı genişlemesi

2.3.1 Tabii hat genişlemesi

Kuantum mekaniğinden bilindiği gibi bir atomun enerji seviyeleri belirli bir değerde olmayıp E_1 - E_2 geçişine ait enerji seviyeleri ΔE_1 ve ΔE_2 gibi enerji genişliğine (belirsizliğine) sahiptir. Bu durumda uyarılma sonucu tek bir enerji yerine iki enerji teriminin belirsizliklerinin toplamı ($\Delta E_1 + \Delta E_2$) mertebesinde hat genişlemesi söz konusudur.

Heisenberg Belirsizlik Kuralına göre E_1 ve E_2 seviyelerindeki belirsizliklere karşı gelen ΔE_1 ve ΔE_2 değerleri, atomların E_1 ve E_2 seviyelerindeki ortalama alıkonma süreleri olan Δt_1 ve Δt_2 ye

$$\Delta E_1 \cdot \Delta t_1 = h/2\pi \quad (2.5)$$

$$\Delta E_2 \cdot \Delta t_2 = h/2\pi \quad (2.6)$$

eşitliklerine göre bağlanabilir. E_1 ve E_2 arasındaki geçiş için tabii hat genişliği (veya toplam belirsizlik),

$$\Delta E = (1/\Delta t_1 + 1/\Delta t_2) \cdot h/2\pi \quad (2.7)$$

veya

$$\Delta \nu_N = (1/\Delta t_1 + 1/\Delta t_2) \cdot 1/2\pi \quad (2.8)$$

şeklinde yazılabilir. Atomik absorpsiyonda alt seviye kararlı olduğundan alıkonma süresi Δt_1 sonsuzdur. Bu durumda,

$$\Delta \nu_N = (1/\Delta t_2) \cdot 1/2\pi \quad (2.9)$$

olur. (2.9) eşitliğine göre E_1 - E_2 geçişi için bulunacak olan tabii hat genişliği 10^{-5} nm mertebesinde ve diğer etkenlerin yanında oldukça küçüktür [9].

2.3.2 Doppler genişlemesi

Atomların ısısal hareketlerinden kaynaklanır ve bir gaz bulutu halinde olan atomların serbest hareketleri sebebiyle ortaya çıkar. Atomların ışık hızının yanında çok küçük bir hızla hareket etmelerine rağmen absorpsiyon piki genişler. Absorpsiyon frekansı absorplama yapan atomların ışın kaynağına göre olan hareketlerine bağlıdır. Eğer hareket kaynağa doğru ise absorpsiyon frekansı azalır; aksi yöne ise artar. Kaynağa göre hızı olmayan atomlar ise Doppler genişlemesinden etkilenmezler ve bunların absorpsiyon hat genişliği başka bir genişletici etki yoksa tabii hat genişliği kadardır.

Eğer bir gaz sistemi içindeki atomların hepsi gazın belirli bir yöndeki hareketi nedeniyle aynı yönde eşit hıza sahipse absorpsiyon hattının genişliği değişmez fakat hareket yönüne bağlı olarak daha düşük veya daha yüksek frekanslara kayar. Buna karşılık atomlar Maxwell hız dağılımına uygun olarak gelişigüzel hareket ediyorsa hat genişler fakat yeri değişmez; yani gaz sistemi içinde hareket eden atomların absorpsiyon hattı, tabii frekans hattı etrafında simetrik olarak genişler.

Eğer ν_0 frekansında absorpsiyon yapacak olan atomlar ışık kaynağından aksi yöne doğru v hızıyla (ışın kaynağına doğru $-v$ hızıyla) hareket ederlerse, Doppler kuralına göre ν_0 yerine $\Delta\nu_D$ kadar kayma yaparak ν_D frekansında absorplar. Doppler yarı genişliği,

$$\Delta\nu_D = 2 \nu_0 / c (2 \ln 2) RT/M)^{1/2} \quad (2.10)$$

veya

$$\Delta\nu_D = 7.16 \times 10^{-6} \nu_0 (T/M)^{1/2} \quad (2.11)$$

eşitliğine göre verilir.

M = Absorpsiyon yapan atomun atom ağırlığı

T = Mutlak sıcaklık

c = Işın hızı

Doppler genişmesi atom ağırlığına, sıcaklığa ve gözlenen hattın frekansına bağlıdır.

2.3.3 Basınç genişlemesi

Absorpsiyon yapan atomların ortamda bulunan yabancı gaz atomları veya molekülleriyle çarpışmalarından meydana gelen genişlemedir. Bu çarpışma sonucunda uyarılmış atom enerjisini kaybeder ve ömrü azalır. Böylece enerji seviyeleri değiştiğinden absorpsiyon hatları genişler, hat maksimumu kayar ve hat profilinin simetrisi bozulur. Basınç genişlemesi, yabancı gazın molekül ağırlığına, absorplama yapan atomun atom ağırlığına ve ortamın sıcaklığına bağlıdır. Deneysel olarak yabancı gazın basıncı arttıkça hat genişlemesinin, hat maksimumundaki kaymanın ve hat profilinin asimetrisinin arttığı gözlenmiştir.

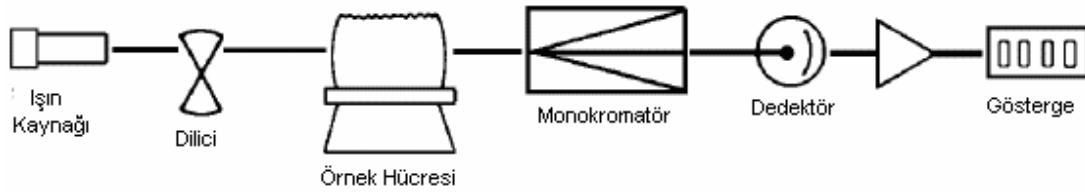
2.3.4 İnce yapı genişlemesi

Çekirdek spininin sıfırdan farklı olması ve/veya çeşitli izotopların varlığı nedeniyle ortaya çıkar. Böylece her hat birbirine çok yakın ve her biri ayrı bir absorpsiyon hattı gibi davranan farklı bileşenlere ayrılır.

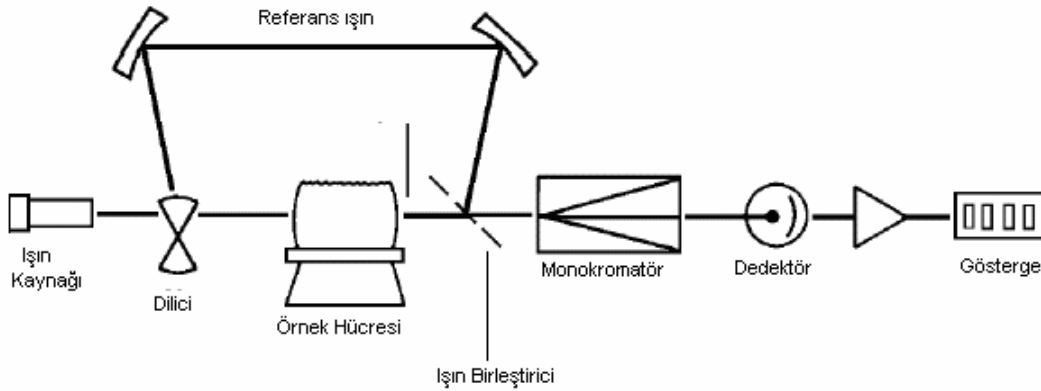
Çekirdek spin momentiyi elektron spin momentinin etkileşmesi sonucu çekirdekle elektron yörüngesi arasında manyetik etkileşme olur ve elektronun enerji seviyeleri yarılr. İnce yapı yarılmaları 10^{-3} - 1 cm^{-1} mertebesindeir.

2.4 Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (AAS) [1, 5, 10]

Atomik absorpsiyon spektroskopisinin ana prensibi, temel haldeki analiz elementinin atomları üzerine absorpsiyon yapabilecekleri dalga boyunda ışın göndererek, gelen ve geçen ışık şiddetlerinin ölçülmesidir. Atomik absorpsiyon spektrofotometrelerin genel komponentleri: analiz elementinin absorplayacağı dalga boyunda ışıma yapan bir ışın kaynağı, örnek çözeltisi içindeki analiz elementini atomik gaz buhar bulutu haline getiren bir atomlaştırıcı, çalışılan dalga boyunu diğer dalga boylarından ayıran bir monokromatör, ışın şiddetini ölçen bir dedektör, çok sayıda elektronik devrelerden oluşan ve çeşitli sonuçların verildiği bir göstergedir (Şekil 2.1).



(a)



(b)

Şekil 2.1 : Tek ışın yollu (a) ve çift ışın yollu (b) AAS cihazların şematik gösterimi.

2.4.1 Işık kaynakları [5]

Atomik absorpsiyon spektrofotometresinde ışık kaynaklarının görevi numunedeki atomların absorplayacağı dalgaboyundaki ışınları yaymaktır. Tayin edilen

elementlerin absorpsiyon hat genişliğinden daha dar emisyon spektrumu veren ışın kaynakları kullanılmalıdır. Aksi halde hassasiyeti düşüren düşük absorbans değerleri elde edilir.

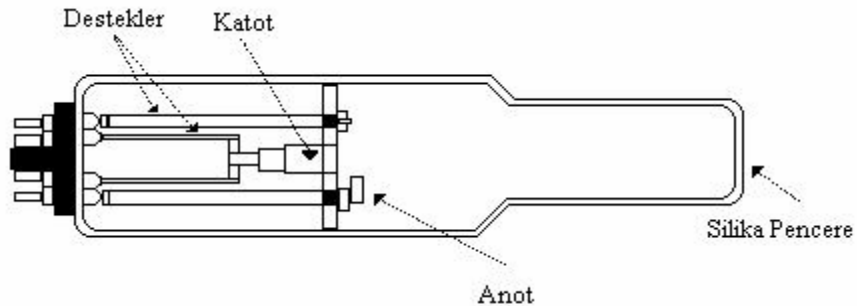
AAS’de kullanılan ışın kaynakları şu şekilde sınıflandırılabilir:

- 1) Oyuk katot lambaları
- 2) Elektrotsuz boşalım lambaları
- 3) Yüksek ısımalı lambalar
- 4) Sürekli ışın kaynakları

2.4.1.1 Oyuk katot lambaları

Atomik absorpsiyon spektrofotometresinde en çok kullanılan ışık kaynağı oyuk katot lambalarıdır. İlk kez 1916 yılında Paschen tarafından dizayn edilmiştir. Atomik absorpsiyonda kullanılmaya başlandıktan sonra Walsh ve arkadaşları tarafından geliştirilerek basitleştirilmiştir [11].

Oyuk katot lambaları düşük basınç altında inert bir gaz (neon veya argon) ile doldurulmuş 3-4 cm çapında 8-10 cm boyunda anot ve katot içeren bir cam silindirden oluşmaktadır (Şekil 2.2). Katot genellikle 3-5 mm çapında oyuk bir silindir şeklinde olup ya analiz elementinden yapılır ya da analiz elementi ile kaplanır. Anot ise tungsten, nikel, tantal veya zirkonyumdan yapılır. Katodun tam karşısında UV ve görünür bölge ışınlarını geçiren kuartz veya camdan yapılmış bir pencere bulunur.



Şekil 2.2 : Oyuk katot lambasının yapısı.

Eğer lambadaki anot ile katot arasına 100-400 voltluk bir gerilim uygulanırsa bu gerilimde oluşan boşalım sonucu, lamba içindeki inert gaz atomları iyonlaşır ve yeterli enerjiye sahip olan inert gaz iyonları meydana gelir. Pozitif yüklü gaz iyonları gerilim altında hızla katoda çekilirler ve yeterli enerjiye sahiplerse katottaki atomları yerlerinden kopararak bir atom bulutu oluştururlar. Bu atomların bir kısmı uyarılmış seviyededir ve temel hale dönerken katottaki elementin karakteristik spektrumunu yayarlar.

Oyuk katot lambalarında gereğinden daha yüksek potansiyel uygulanmamalıdır. Aksi takdirde gaz halinde çok fazla metal oluşturur ki bu metallerin de pek çoğu uyarılmamış halde olduklarından, uyarılmış atomların yaydığı ışığı adsorbe ederler (self absorpsiyon) ve ışın demetinin şiddetini düşürürler.

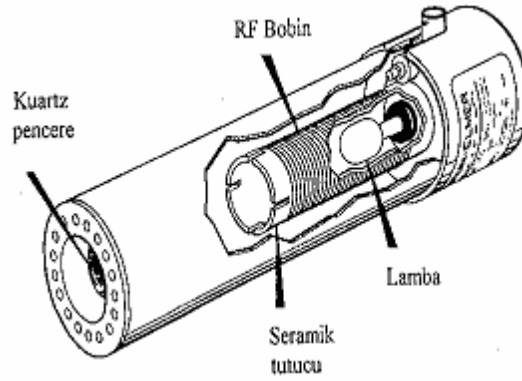
Atomik absorpsiyon spektroskopisi yönteminde her element için o elemente özgü bir oyuk katot lambasının spektrofotometreye yerleştirilmesi gerekir. Bu da zaman kaybına neden olacağından atomik absorpsiyon analizlerindeki en önemli dezavantajdır. Bu nedenle çok elementli oyuk katot lambaları düşünülmüştür. Bu amaçla kullanılacak metallere göre, katot alaşımlardan, metalik bileşiklerden veya toz haline getirilmiş metallerin karışımlarından yapılır. Çok elementli lambalar pratik olmasına rağmen her bir elementin emisyon şiddeti tekli lambanınkinden daha zayıftır. Bunun sonucunda da sinyal/gürültü oranı artar ve bu da kesinliği ve gözlenebilme sınırını etkiler.

2.4.1.2 Elektrotsuz boşalım lambaları

Elektrotsuz boşalım lambaları hem atomik absorpsiyon hem de atomik floresans spektrometresinde kullanılır. Elektrotsuz boşalım lambalarının ışın şiddeti oyuk katot lambasınınkinden daha fazladır. Ayrıca çok ucuza mal edilebilirler. Elektrotsuz boşalım lambaları yüksek frekansta boşalım yapan lambalardır ve 8-10 cm uzunluğunda, 0.5^{-1} cm çapında, birkaç mg tayin elementini içeren (saf metal veya metal bileşiği) ve birkaç mm Hg basıncında inert gaz (Ar, Ne, He gibi) ile doldurulmuş kapalı kuartz tüplerden oluşmuşlardır. Tüp yüksek frekanslı bir jeneratörün sarımları arasına yerleştirilmiştir ve birkaç wattan 200 watta kadar bir güçle uyarılır (Şekil 2.3). Tüpe hızla değişen elektromanyetik alan uygulanarak yüksek frekans elde edilir ve inert gazın iyonlaşması ile boşalım başlar. Boşalım

sonucu oluşan elektronların element atomları ile çarpışarak onları uyarmaları sonucu emisyonu sağlanır. Elektrotsuz boşalım lambaları ile çalışılacak elementlerin, lamba sıcaklığında (500°C - 1100°C) yeterli buhar basıncına sahip olmaları gerekir. Eğer metal yeterince uçucu değilse uçuculuğu daha fazla olan halojen tuzları, özellikle iyodürleri kullanılır [12].

Elektrotsuz boşalım lambaları özellikle vakum UV bölgede büyük avantaja sahiptir, çünkü bu bölgede tayin edilen elementler için uygun ışın kaynağı yoktur. Ayrıca yine bu bölgede hava, alev ve merceklerin absorpsiyonu ve aynaların zayıf yansıtma özellikleri nedeniyle yüksek ışıma şiddeti oldukça önemlidir. Bu tür lambaların en büyük dezavantajı ise ömürlerinin kısa olmasıdır [10].



Şekil 2.3 : Elektrotsuz boşalım lambasının yapısı.

Elektrotsuz boşalım lambaları atomik absorpsiyon spektrofotometrelerinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır hatta birçok element için diğer ışın kaynaklarının yerini almaktadır. As, Se, Sb gibi uçucu ve küçük dalga boylarında ($<200\text{ nm}$) absorpsiyon ve emisyon yapabilen elementler için elektrotsuz boşalımlambaları kullanılır.

2.4.1.3 Yüksek ışımalı lambalar

Sullivan ve Walsh tarafından geliştirilen yüksek ışımalı lambalarda standart oyuk katottan başka bir çift yardımcı elektrot bulunmaktadır. Normal oyuk katot lambalarında katotta oluşan bütün atomlar uyarılmaz. Sadece uyarılan atomlar ışıma yapabileceklerinden yardımcı elektrotların amacı geriye kalan temel seviyedeki atomları uyarmak için gerekli ikinci akımı geçirmektir. Böylece ışın şiddetinde oyuk katot lambasına göre 50-100 kat bir artış görülür. Buna rağmen yüksek ışımalı

lambalar yapısının karmaşıklığı ve ikinci bir güç kaynağı gereksinimi nedeniyle bazı özel çalışmalar dışında pek kullanılmaz.

2.4.1.4 Buhar boşalım lambaları

Buhar boşalım lambaları, lamba içinde buhar halinde bulunan analiz elementinden akım geçirilmesi ile emisyon yapar. Buhar boşalım lambaları Hg, Tl, Zn ve Cd gibi çok uçucu metallerin ve alkalilerin tayini için kullanılmaktadır. Buhar boşalım lambaları atomik absorpsiyon spektrofotometresinde pek tercih edilmemektedir.

2.4.1.5 Sürekli ışık kaynakları

Yeterli parlaklıkta ışıma yapan ışın kaynakları hidrojen, döteryum, yüksek basınçlı ksenon veya halojen lambalar ilk bakışta bazı nedenlerden dolayı daha çekici görünebilir. Bunların emisyonu kararlıdır ve özellikle birden fazla element analizinde kullanışlı ve ucuzdurlar. Sürekli ışın kaynaklarının absorpsiyon hatlarının dar olması, yüksek kalitede bir monokromatörle bile analitik doğrusallıktan sapma gözlemlendiğinden ve yüksek absorpsiyonlarla çalışılmak mümkün olmadığından dolayı çok kısa bir zamana kadar bu lambalar atomik absorpsiyon spektrofotometresinde kullanılmıyordu. Son yıllarda CCD (charge coupled device) dedektörlerinden yararlanarak sürekli ışın kaynaklarının kullanıldığı atomik absorpsiyon spektrofotometreleri geliştirilmiştir. Bu sayede çok sayıda element hemen hemen aynı anda tayin edilerek AAS'deki her element için lamba değiştirme dezavantajı ortadan kaldırılmaktadır [13-16].

2.4.2 Atomlaştırıcılar [1, 5]

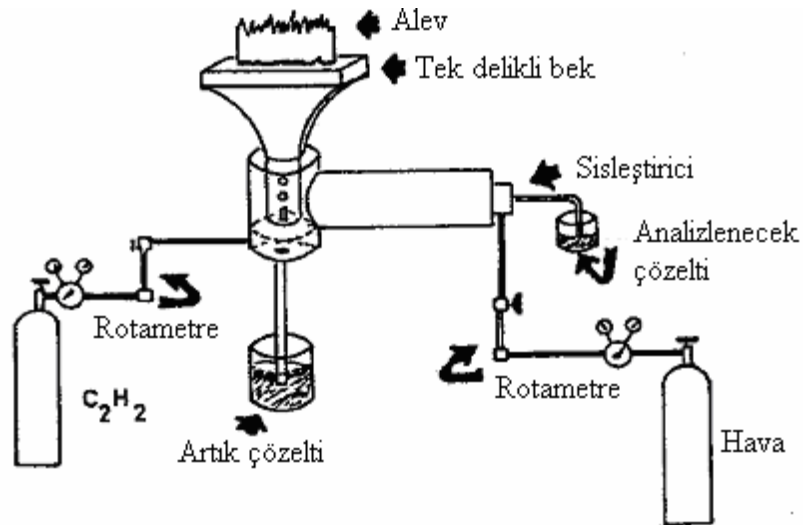
Bir atomlaştırıcının (absorpsiyon hücresinin) en önemli görevi, bir örnekte termal seviyede bulunan iyon ve moleküllerden analiz edilecek elementin atomlarını oluşturmaktır. Işın kaynağından gelen emisyon atomlaştırıcıdan geçirildiğinde bir kısmı termal ayrışma sonucu oluşturulan atomlar tarafından absorplanır. Bu nedenle AAS'de bir analizin duyarlılığı, atomlaştırmanın etkinliğine bağlı olduğundan cihazın en önemli bileşenidir.

1970 yılına kadar örnek atomları ayrışması için atomik absorpsiyon spektrofotometresinde çözelti aleve püskürtülmüştür. Daha sonra alevsiz

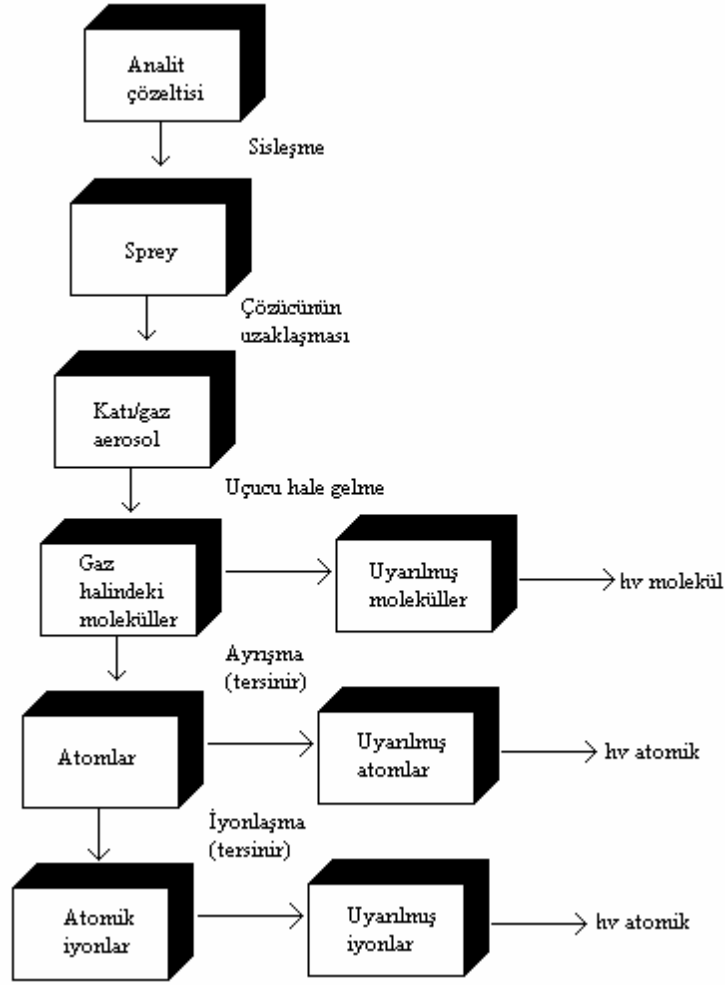
atomlaştırıcılar (grafit fırın tekniği, hidrür tekniği ve soğuk buhar tekniği) eser element veya ultraeser element analizinde büyük önem kazanmıştır. Genel olarak atomlaştırıcılar alevli ve elektrotermal olmak üzere ikiye ayrılırlar:

2.4.2.1 Alevli atomlaştırıcılar (FAAS) [2,12]

Alevli atomlaştırıcılarda örnek çözeltisi aleve havalı (pnömatik) bir sisleştirici yardımıyla püskürtülür (Şekil 2.4). Örnek çözeltisi aleve püskürtüldüğü zaman oluşan ilk olay çözücünün buharlaşmasıdır. Buharlaşma hızı, damlacıkların büyüklüğüne ve çözücü türüne bağlıdır. Buharlaşma sonucu oluşan katı parçacıklar (örneğin tuz kristalleri) ısı etkisi ile değişikliklere uğrar. Organik bileşikler yanarken inorganikler buharlaşır veya tepkimelere girerler. Taneciklerin buharlaşmasından sonra oluşan gaz molekülleri ısısal ayrılma ile atomlarına ayrılırlar. Bir alevde tayin edilen elementin ve örnekteki diğer elementlerin atomlarından başka CO, CO₂, C, H₂O, O₂, H₂, H, OH, NO, NO₂ gibi çeşitli yanma ürünleri de bulunmaktadır ve bunlar bazen aşırı miktarda olabilir. Ayrıca alevde çeşitli türler arasındaki denge tepkimeleri sonucunda yeni bileşikler oluşur. Eğer iki ayrı denge tepkimesi sonucu aynı ayrışma ürünü oluşuyorsa, tepkime ürünlerinin kısmi basıncı nedeniyle bu iki tepkime birbirini etkileyecektir. Ayrışmanın bu şekilde zayıflamasından başka analit atomlarının derişimi iyonlaşma ve/veya başka bir anyonla tepkimeye girmesi ile de etkilenebilir. Bu nedenle alevdeki olaylar son derece karmaşıktır. Şekil 2.5’de alevde atomlaştırma sırasında oluşan süreçler şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.4 : Genel bir alev atomlaştırıcısı.



Şekil 2.5 : Alevde atomlaştırma sırasında oluşan süreçler.

Alev ortamının kısmi basıncı atomlaşmayı azaltır, ayrıca metal iyonlarının iyonlaşması veya başka oluşan katı taneciklerinin boyutu ve numunenin beslenme hızı da atomlaşma verimini etkiler. Atomik absorpsiyon spektroskopisinde numune ışığı alevin içinden geçtiği için alevin tamamen geçirgen olması absorpsiyon veya emisyon yapmaması gerekir. Alevin emisyonu sinyaldeki gürültünün artmasına neden olur. AAS’de kullanılan alev, optik olarak geçirgen olmalıdır yani alevin kendisi analiz elementi ve ortamdaki diğer bileşenlerle veya alev gazlarının yanma ürünleriyle herhangi bir reaksiyon vermemelidir ve atomlaşma verimi yüksek olmalıdır.

Çizelge 2.1’de AAS’de kullanılan çeşitli yakıcı ve yanıcı gaz türleri ve bunların oluşturduğu alevlerin maksimum sıcaklıkları verilmiştir.

Çizelge 2.1 : Atomik spektroskopide kullanılan bazı alev türleri.

Yanıcı Gaz	Yakıcı Gaz	Maksimum Sıcaklık, °C
Doğal Gaz	Hava	1800
Propan	Hava	1900
Hidrojen	Hava	2000
Asetilen	Hava	2300
Hidrojen	Oksijen	2700
Hidrojen	Azotprotoksit	2650
Propan	Azotprotoksit	2650
Asetilen	Azotprotoksit	2800
Asetilen	Oksijen	3100

Çalışmaların çoğunda hava-asetilen alevi kullanılır. Azotprotoksit-asetilen alevi, hava-asetilen aleviyle tayin edilemeyen ısısal olarak daha kararlı elementler için kullanılabilir. Bu alevin sıcaklığı, hava-asetilen alevine göre daha yüksektir. Analiti en yüksek verimle atomlaştırabilmek için (analit atomları derişiminin yüksek olması için) alev türü seçiminde analitin kararlılığı kadar oluşan atomların alev gazlarıyla verebileceği tepkimeler ve dolayısıyla alev ürünleri önemlidir. Bu nedenle alev türü, yakıcı ve yanıcı gaz oranları ve alev içinde gözlemin yapıldığı bölge seçimi çok önemlidir. Bu faktörler için uygun değerler aletin el kitabında verilmekle birlikte analizci tarafından her örnek için optimize edilmelidir. Yakıcı ve yanıcı gaza ek

olarak sıcaklığı kontrol etmek için bazen ek alev gazları kullanılmaktadır. Bunlardan en çok kullanılanlara örnek olarak argon-oksijen-asetilen alevi ve helyum-oksijen-asetilen alevi verilebilir.

AAS’de alevin oluşturduğu iki tür alev başlığı kullanılır:

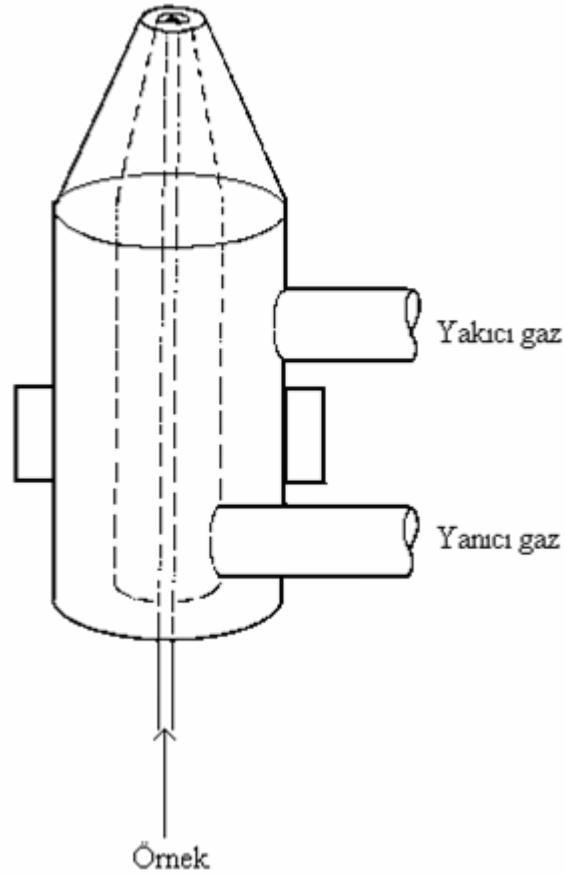
1) Ön-karıştırmaz (turbulent) yakıcılar

2) Ön-karıştırmalı (premix burner) yakıcılar

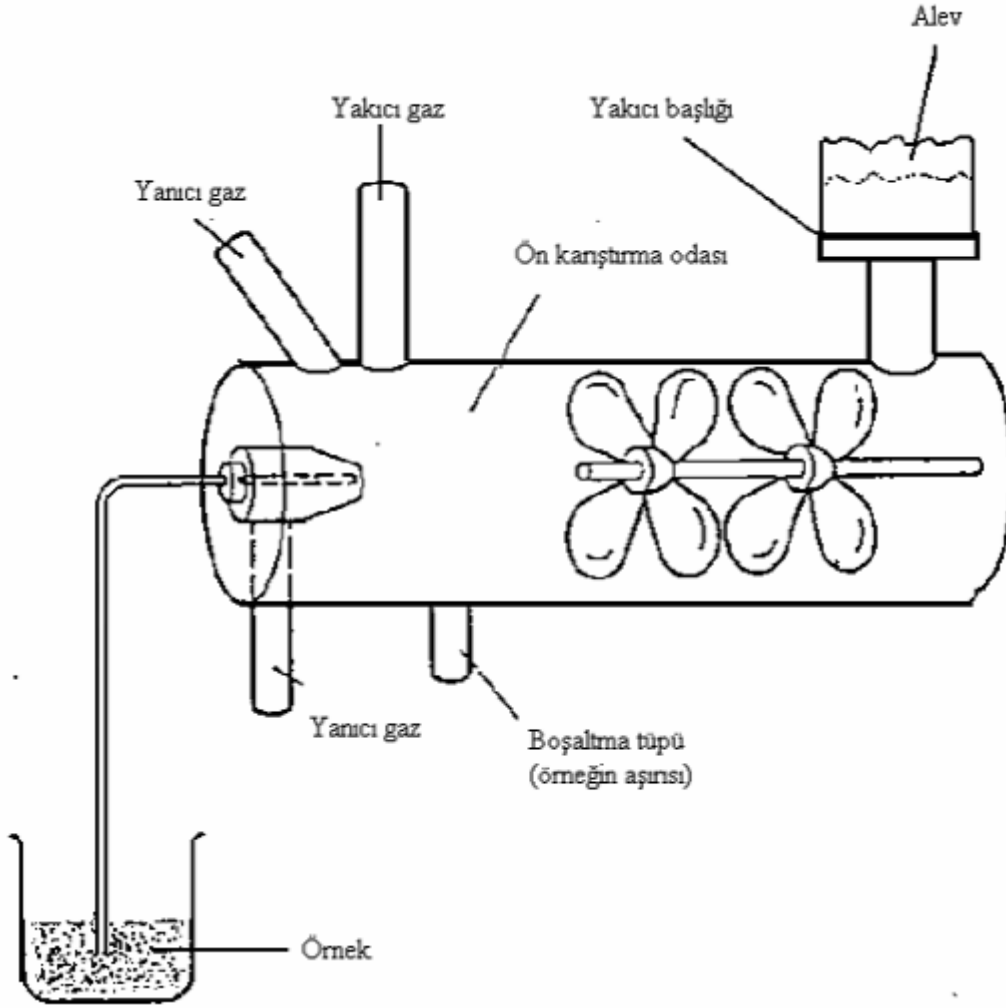
Ön-karıştırmaz yakıcılarda, örnek çözeltisi, yükseltgeyici (yakıcı gaz) ve yakıt (yanıcı gaz) birbiriyle karışmadan ayrı ayrı aleve taşınırlar ve yakıcı başlığının hemen çıkışında karışırlar (Şekil 2.6). Bu yakıcıların avantajı, alev gazları yakılmadan önce karıştırılmadığı için patlama olasılığı ortadan kalkar ve çabuk alev alan gazların güvenli bir şekilde kullanılmasını mümkün kılar. Dezavantajı ise, aleve büyük bir damla geldiği zaman tamamen buharlaşmayan katı taneciklerin emisyon yaparak gürültüye (noise) sebep olmasıdır. Alevdeki gürültü, dedektör tarafından kaydedilen gürültü miktarını artırır. Bu da kararsız bir okumayla sonuçlanır. Örnek damlacıklarının alevdeki alıkonma süresi içinde ancak buharlaşma tamamlandığı için örneğin küçük bir miktarı atomlaşır. Ayrıca bu yakıcılarda ışının alev içinde kat ettiği yol kısa olduğundan hassasiyet düşüktür. Bu sebeplerden dolayı bu tür yakıcılar AAS’de nadir kullanılır.

Ön-karıştırmalı yakıcılarda (Şekil 2.7) ise örnek çözeltisi ve yakıcı gaz karışımı nebulizer adı verilen alev başlığı altındaki boşluğa emilir ve burada yanıcı gaz akımı ile karışarak küçük damlacıklar veya zerrecikler halinde sisleştirilir. Sisleştirilmiş örnek ve gaz karışımı alev başına doğru taşınırken, akış yoluna yerleştirilmiş engellere çarpan büyük damlacıklar başlığın altında birikerek dışarı atılır ve aleve sadece çok küçük örnek damlacıkları ulaşır. Püskürtme hücresinin görevi alevde buharlaşabilecek küçük parçacıkları seçip aleve göndermektir. Örneğin yaklaşık %90’ı ön karıştırma odasında kaybolur. Engellerin bir diğer görevi ise damlacıkların oksitleyici ve yanıcı gazlar ile aleve ulaşmadan önce tamamen karışmasını sağlamaktır.

Ön-karıştırmaz yakıcılarda aleve daha fazla numune girer. Ancak buharlaşma tamamlandığı için örneğin küçük bir miktarı atomlaşır. Ön-karıştırmalı yakıcılarda, daha düzgün yanan alev yüksek sinyal/gürültü oranı verdiği için nicel analizlerde tercih edilir. Bunların dezavantajı, yakıcı gaz ve yanıcı gaz ön karıştırma odasında yandığı zaman patlamalar oluşabilir.



Şekil 2.6 : Ön-karıştırmaz yakıcı.

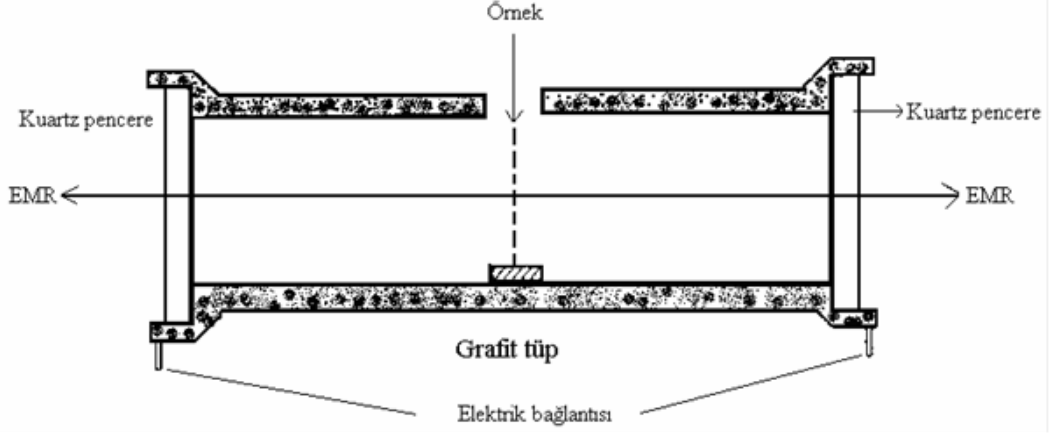


Şekil 2.7 : Ön-karıştırmalı yakıcı.

2.4.2.2 Elektrotermal atomlaştırıcılar (ETAAS) [1, 2, 12, 17-25]

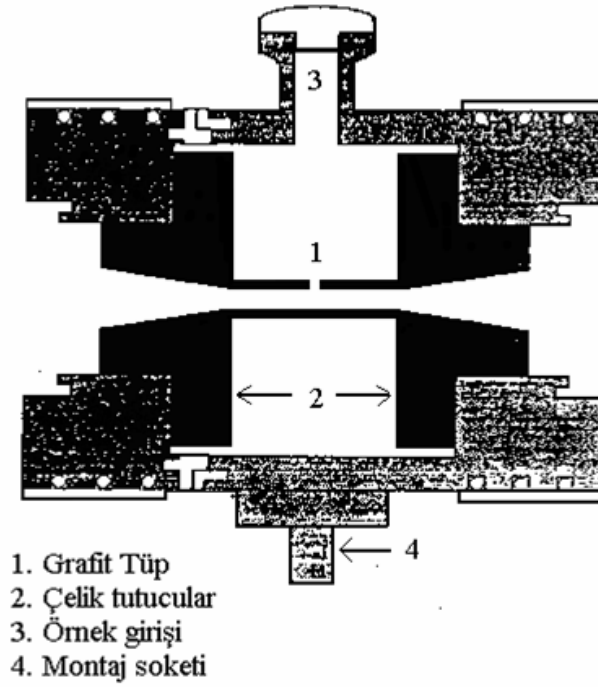
Elektrotermal atomlaştırıcılar (grafit fırınlar), gaz halinde serbest metal atomları oluşturmak için elektrikle ısıtılan grafit çubuklar, metal şeritler, metal bobinler ve grafit tüplerdir. En çok kullanılan elektrotermal atomlaştırıcı, dirençle ısıtılan grafit tüptür. Bu tip atomlaştırıcılar grafit fırınlı AAS (GFAAS) olarak adlandırılır. Şekil 2.8’de grafit tüplü bir fırının basit bir şeması görülmektedir. Duyarlılık ve gözlenebilme sınırının daha iyi olması, numunelerin ekonomik olarak kullanılabilmesi ve alev tekniklerindeki bazı sınırlamaların olmaması gibi üstünlükleri bulunmaktadır. Grafit fırınlı atomlaştırıcılar ilk kez 1970 yılında piyasa çıkmıştır. İlk olarak B.V. L’vov tarafından geliştirilmiştir. Bu fırınlarda örneğin grafit tüpe enjekte edildiği küçük bir delik bulunmaktadır. Kaynaktan gelen ışın

tüpün içersinden geçer. Bu fırınlar örneğin atomik türlerinin fırın duvarlarına difüzlenmesini önlemek için genellikle pirolitik grafit ile kaplanır. Pirolitik grafit, karbonun inert atmosferde CH_4 ile ısıtılmasıyla hazırlanır. Ayrıca fırın oksidasyona karşı Ar veya N_2 ile korunur.



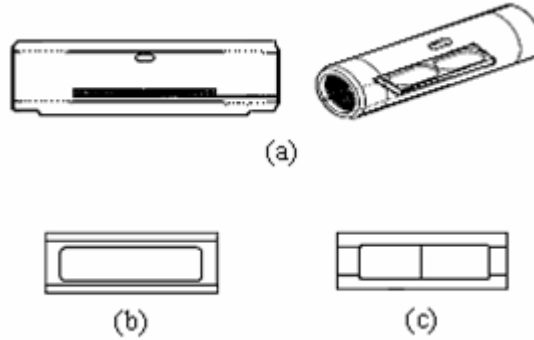
Şekil 2.8 : Grafit tüplü bir fırının basit şeması.

Daha sonra geliştirilen ve ilk ticari grafit fırın olan Massman tipi olarak bilinen grafit fırın türlerinde örnek elektriksel olarak ısıtılan küçük, iki ucu açık bir grafit tüpte atomlaştırılır (Şekil 2.9). Massman fırınlarında atomlaşma tam olarak uygun koşullarda gerçekleşmemektedir. Örnek başlangıçta tüpün soğuk duvarlarına enjekte edilmekte ve daha sonra hızlı bir şekilde ısıtılmaktadır. Analit atomları termal denge halindeki bir ortamda olmadığından gaz fazında özellikle matriks parçalanma ürünleri ile çeşitli birleşme reaksiyonları meydana gelmektedir yani kimyasal girişimler oluşmaktadır. Bu tür fırınlarda oluşan atomların %60'nın tüpün daha soğuk olan uç kısımlarına difüze olduğu ve buralarda yoğunlaştığı tespit edilmiştir. Ayrıca tüpün orta ve uç kısımları arasında 2500 °C ile 800 °C arasında değişen sıcaklıklar ölçülmüştür.



Şekil 2.9 : Massman fırını.

Bu problemleri ortadan kaldırmak için L'vov ve arkadaşları örneğin direkt olarak grafit tüpün duvarlarına verilmesi yerine, tüpün içersine yerleştirilen bir platforma verilmesini önermişlerdir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10 : a) Grafit tüp b) Tek oyuklu L'vov platform c) Çift oyuklu L'vov platform.

Tüpün dibine yerleştirilen platform fırın duvarlarından radyasyonla ısınmaktadır. Grafit tüp atomlaşma basamağına göre hızlı bir şekilde ısınırken platform, fırının duvarlarından gelen ışınlardan ısıtıldığından sıcaklığı fırın duvarlarına göre daha düşüktür. Sonuç olarak örneğin platform üzerinden atomlaşması fırın sıcaklığına gelene kadar geciktirilmiş olur. Örnek daha yüksek ve sıcaklığın değişmediği bir ortam içine atomlaştığından gaz fazı birleşme girişimlerinde azalma görülür. Örnek daha yüksek ve sıcaklığın değişmediği bir ortam içine atomlaştığından gaz fazı birleşme girişimlerinde azalma görülür [7].

Slavin ve arkadaşları L'vov platformun tek başına yeterli olmadığını belirterek Stabilized Temperature Platform Fırın (STPF) tekniğini geliştirdiler. Bu teknik atomlaşma basamağında hızlı ısıtma ve gaz akışının kesilmesi, pik yüksekliği yerine pik alanı değerlendirme, pirolitik (kaplı) grafit platform ve tüp ve Zeeman etkili zemin düzeltme kullanımını içermektedir.

Genellikle 10-50 µl arasındaki sıvı örnek, örnek verme oyuğundan, soğuk tüpün içine (tüp duvarlarına veya tüpün içindeki platforma) verilir. Bu amaçla otomatik pipetler veya daha yaygın olarak otomatik örnekleyiciler (autosampler) kullanılmaktadır. Tüp daha sonra programlanabilir bir güç kaynağı yardımıyla ısıtılır. Grafit fırın sıcaklık programı farklı amaçlar için düzenlenmiş çok sayıda basamak içermektedir:

- Kurutma Basamağı: Bu basamakta çözücünün kaynama noktasının altındaki bir sıcaklığa kadar fırın yavaşça ısıtılarak çözücü uzaklaştırılır. Sulu çözeltiler için (yaklaşık 30 s) 110 °C 'ye kadar ısıtma yapılır. Sıçramaları önlemek için kurutma basamağında sıcaklık yeterince düşük olmalıdır.
- Piroliz (Ön atomlaşma) Basamağı: Piroliz basamağı analiz edilen maddenin buharlaştırılmadan uçucu matrikslerin uzaklaştırıldığı basamak olup örnek içindeki bütün uçucu bileşenleri uzaklaştırmaya yetecek kadar uzun olmalıdır. Tipik olarak bu basamaktaki sıcaklık 350-1200 °C arasında değişir. Ön atomlaşma basamağında organik ve uçucu inorganik bileşikler uzaklaşır ve örnekteki matriks bileşenleri parçalanır.
- Atomlaşma Basamağı: Bu basamakta ise sıcaklık tayin elementinin gaz atomlarının oluştuğu noktaya kadar yükseltilir. Genellikle bu sıcaklık (yaklaşık 5 s) 2000-3000 °C arasındadır. Tayin elementinin absorpsiyonu atomlaşma basamağı sürecince ölçülür. Bu basamakta genellikle atomlaştırıcıdan geçen gaz akışı kesilir veya bazı durumlarda azaltılır. Atomlaştırıcıdan, atomlar absorpsiyon sinyali oluşturarak hızlıca spesifik ışın yolunun dışına atılırlar. Bu sinyal çoğunlukla sivri bir pik şeklinde gözlenir. Çalışma eğrisini hazırlamak için hem pik alanı hem de pik yüksekliği kullanılabilir.
- Temizleme Basamağı: Tüp yüksek sıcaklıklara ısıtılarak kalıcı veya az uçucu matriksler ortamdan uzaklaştırılır.
- Soğutma Basamağı: Bu basamakta oda sıcaklığına kadar fırın soğutulur.

Her basamak gerekirse birden fazla sıcaklık programı içerecek şekilde optimize edilmelidir.

Grafit fırınlı atomlaştırıcıların üstünlüklerini şu şekilde sıralanabilir:

- 1) Birçok metal için grafit fırında tayin sınırı alevden 100 ile 1000 kat daha düşüktür. Bu durum ppb seviyelerinde çok sayıda elementin örneğin derişikleştirilmesine gerek duyulmadan tayinini sağlar (ultraeser analiz) .
- 2) 5 ile 50 µl gibi oldukça küçük örnek miktarı ile çalışılır. Bu durum çok küçük miktarlardaki örneklerle çalışma imkânı sunar (mikroanaliz).
- 3) Sıvı örneklerin tamamıyla çözelti olması gerekmemektedir. Grafit fırın, homojen süspansiyonların ve emülsiyonların analiz edilmesi için de kullanılmaktadır.
- 4) Plastikler, tırnaklar, saç parçaları, toz haline getirilmiş bitki örnekleri, dokular ya da kaya gibi katı örnekler uzun bir ön işleme tabi tutulmadan analiz edilebilmektedir.
- 5) Yanıcı bir gaz kullanılmadığı için daha güvenlidir. Kullanıcının bulunmadığı ortamda oto-örnekleyici ile analiz yapılabilir.

Bütün bu avantajlara rağmen grafit fırın, alev tekniğinin yerini her zaman alamaz. Eğer örnek yüksek konsantrasyonda element içeriyorsa ve çözelti halinde ise bilinen alev teknikleriyle tayin yapmak daha doğrudur. Grafit fırın bu durumda avantajlı değildir. Örnek içinde en çok bulunan bileşen analiz edilmek isteniyorsa, örneğin bir kaya örneğinde silisyum tayini gibi, grafit fırının yüksek duyarlılığı nedeniyle bu yöntem kullanılmaz.

2.4.3 Monokromatörler [5]

Spektroskopik yöntemlerin çoğunda aletin üstünlüğü doğrudan monokromatörün ayırıcılığına bağlı olduğu halde, atomik absorpsiyon spektroskopisi için bu o kadar önemli değildir.

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde kullanılan monokromatörde ayırıcılık ve ışın miktarı ilişkisi göz önünde bulundurulmalıdır. AAS'nin elementleri ayırma ve spektral engellemeleri önleme yeteneği monokromatöre bağlı olmayıp oyuk katot lambasının yaydığı emisyon hatlarının genişliğine ve tayin elementinin absorpsiyon

hatlarının genişliğine bağlıdır. Monokromatörün esas görevi tayin elementinin rezonans hattını, oyuk katot lambasının yaydığı diğer hatlardan ayırmaktır.

Monokromatörler, iki yarık (bir giriş ve çıkış), bir dalga boyuna ayırma bileşeni (hemen hemen daima şebeke) ve yardımcı optik bileşenlerden oluşur. Giriş ve çıkış yarıkları, ışın kaynağından çıkarak monokromatöre giren ve dedektör üzerine düşen ışın oranını kontrol eder. Geniş giriş yarığı kullanılabildiğinde ışın enerjisinin daha büyük miktarı dedektöre ulaşır. Bu durumda gürültü, sinyale oranla küçüldüğünden sinyal kararlıdır, kesindir ve düşük derişimler ölçülebilir.

2.4.4 Dedektörler [5]

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

AAS'de ışın sinyalinin elektrik sinyaline dönüştürülmesi için fotoçoğaltıcılar kullanılır. Fotoçoğaltıcılar, ışığa duyarlı bir katot, bir anot ve oluşan akımı artıran dinot adı verilen katottan daha pozitif gerilimde elektrotlardan oluşur. Katot antimon, bizmut ve/veya gümüşlü alkali metal karışımları gibi kolaylıkla iyonlaşan bir malzemeye kaplanmışır. Bir fotoçoğaltıcının hassasiyeti, katodun kaplama maddesine bağlıdır. Pratikte ölçülebilen dalga boyu 193,7 nm (As) ve en yüksek dalga boyu da 852,1 nm (Cs)'dir.

Bu dedektörde, katot yüzeyine çarpan ışın tarafından koparılan bir fotoelektron birinci dinoda doğru çekilir ve gerilim farkı ile orantılı bir kinetik enerjiyle dinot üzerine çarpar. Bunun sonucunda birinci anot üzerinden çok sayıda ikincil elektronlar fırlatılır ve bu işlem diğer dinotlarda aynı şekilde birçok kez tekrarlanarak devam eder. Sonuçta elektronlar çoğaltılarak akım kuvvetlendirilmiş olur. Bu kuvvetlendirme elektrotlar arasındaki gerilime bağlıdır. Kuvvetlendirme (veya kazanç) anotlar (dinotlar) arası voltajla üstel olarak artar.

Ancak dinotlar arası gerilim artışı karanlık akımın ve fotoçoğaltıcı tüpün foton gürültüsünü de artıracaktır. Katot üzerine ışın düşmediği zaman yüksek gerilim altında fotoçoğaltıcı tüpten geçen akım “karanlık akım” olarak adlandırılır.

2.5 Atomik Absorpsiyon Spektrometrisinde Kantitatif Analiz [1, 12, 26]

AAS teknikleri çoğunlukla nicel analiz amacıyla kullanılır. Biyolojik sıvılar, saf metaller, çevre örnekleri, jeolojik örnekler ve su örnekleri gibi pek çok örnekteki esere element bileşimi AAS yoluyla tayin edilebilir. Tayinler kalibrasyon doğrusu veya standart ekleme yöntemlerinden biri ile yapılabilir. Atomik absorpsiyon spektrometrisinde, kantitatif analiz için iki yöntem kullanılır.

2.5.1 Lineer kalibrasyon yöntemi

Analiz edilecek elementin saf bir bileşiğinden hazırlanmış, konsantrasyonları tam olarak bilinen bir dizi standart çözeltinin absorbansları ölçülür. Konsantrasyon değerleri x ekseninde, absorbans değerleri y ekseninde olmak üzere bir grafik çizilir. Elde edilen bu grafiğe “kalibrasyon grafiği” denir. Nicel analiz, kalibrasyon grafiğinin doğrusal olduğu bölgede yapılır. Kalibrasyon grafiğinin doğrusal olduğu bu bölgeye “çalışma aralığı” denir. Kalibrasyon grafiği çizildikten sonra, aynı koşullar altında içindeki analit konsantrasyonunu bilinmeyen örnek çözeltisinin absorbansı ölçülür. Daha sonra, kalibrasyon grafiğinden yararlanarak örnek çözeltisi içindeki analit miktarı belirlenir.

2.5.2 Standart ekleme yöntemi

Lineer kalibrasyon yöntemi ile yapılan analizlerde standartlar tayin elementinin tuzundan hazırlanmış olup içinde örnekteki matriks bileşenleri yer almaz. Dolayısıyla matriks varlığında analitin hassasiyetinin değişmesi halinde örnekteki ve standartlardaki analit absorbanslarının karşılaştırılması hatalı sonuçlara neden olur. Bu nedenle standartların örnek ile aynı matrikste hazırlanması ve analitlerinin aynı bileşimde olması istenir.

Tayin edilen elementin birlikte bulunduğu yabancı maddelerden gelen etkilerin niteliği bilinmediğinde standart ekleme yöntemi kullanılır. Bu yöntemde, analiz çözeltisi uygun oranda seyreltildikten sonra A, B, C gibi kısımlar ayrılır. A kısmının

kendi başına absorbanı okunur. B ve C kısımlarına ise bilinen miktarlarda tayin elementine ait standart çözeltiden eklenir ve absorbanları okunur. İlave edilen konsantrasyonları x ekseninde, absorban değeri y ekseninde olmak üzere bir grafik hazırlanır. Çizilen grafikte elde edilen doğrunun, konsantrasyon eksenini kestiği noktanın absorban eksenine olan uzaklığı örnek içindeki analit konsantrasyonunu verir.

Bu yöntemin başarısı analitin örnekte bulunan ve standart olarak ilave edilen formlarının aynı davranışı gösterip göstermediğine (yani hassasiyetlerinin farklı olup olmadığına) bağlıdır. Örneğin; örnekteki analit organik bileşiği halinde ancak standart olarak kullanılan analit inorganik bileşiği halinde ise ve bunların uçuculukları, kararlılıkları ve atomlaşma verimleri farklı ise sonuçlar hatalı olacaktır. Benzer farklı davranış aynı elementin farklı değerlikli türleri içinde geçerlidir.

Standart ilave yöntemi, numune matriksi tarafından oluşturulan kimyasal girişimlerin etkisini tamamen veya kısmen gidermek için atomik absorpsiyon spektroskopisinde yaygın olarak kullanılır. Ancak analiz edilecek örnek miktarının az olması veya analiz basamaklarındaki analitik işlemlerin uzun ve yorucu olması durumunda standart ilave yönteminin kullanılması bazen mümkün olmayabilir.

2.6 Girişimler [5]

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde girişimler nedenlerine bağlı olarak spektral ve spektral olmayan girişimler olmak üzere iki ana grupta toplanmaktadır.

2.6.1 Spektral girişimler ve düzeltilmeleri [5, 8, 12, 13, 27]

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde ortamdaki moleküllerin veya radikallerin absorpsiyon hatlarının tayin elementinin hattı ile çakışması sonucunda ışığın buharlaşmamış moleküller tarafından absorplanması ile spektral girişimler artar.

Çalışılan dalga boyundaki ışığın analit atomik absorpsiyon ölçümü sırasında gaz fazındaki diğer element atomları, ayrılmamış moleküller veya radikaller tarafından absorpsiyonu ve/veya katı partiküller tarafından saçılması sonucu oluşan girişimlere spektral girişimler adı verilir. AAS’de tavsiye edilen slit aralığı kullanılırsa atomik rezonans hatların direkt çakışması olayına pek rastlanılmaz. Ancak gaz fazındaki moleküller veya radikaller geniş bir dalga boyu aralığında kesiksiz bir absorpsiyon

spektrumuna sahip olduklarından analit dalga boyunda da kaçınılmaz olarak absorpsiyon yaparak girişime neden olurlar. Spektral girişimlerin oluşmasının bir diğer nedeni ise atomik buhardaki küçük parçacıkların ışığı saçmasıdır. Bu olaya grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometresinde alevli atomik spektrometresine oranla daha sık rastlanır. Grafit fırında yapılan analizlerde örnekte bulunan yüksek konsantrasyondaki matriks bileşenlerinin atomlaşma basamağında tamamen ayrışmaması nedeniyle oluşan mikrokristaller veya soğuk uçlardaki örnek kalıntılarının tekrar buharlaşmasıyla oluşan partiküller veya tüp duvarlarından gelen karbon tanecikleri de ışının saçılmasına neden olurlar. Işığın saçılması azalan dalga boyuyla hızla artar. Moleküller, radikaller veya atomlaştırıcıda oluşan (veya buharlaşan) moleküler iyonlar geniş bant moleküler absorpsiyon oluşmasına neden olurlar.

Bu iki etki (moleküler absorpsiyon + saçılma) genellikle zemin değeri veya zemin absorpsiyonu olarak tanımlanır. Tayin elementi atomlarının net absorbansını elde etmek için absorplanan (veya saçılan) ışın miktarı ölçülerek toplam absorbanstan bu değerin çıkarılmasıyla elde edilir.

Alevli AAS'de moleküler absorpsiyon ve partiküller tarafından ışının saçılması ile oluşan spektral girişimlerin yok edilmesi için en iyi ölçümün yapıldığı yüksek sıcaklıklı alev kullanılmalıdır. İyi dizayn edilmemiş ön-karıştırıcı yakıcılar ve hava/asetilen alevinde ışın yolundaki moleküller veya parçacıklar girişime neden olurken daha sıcak azot protoksit/asetilen alevi kullanıldığında moleküllerin sayısı oldukça azalır ve bu etki hemen hemen hiç görülmez. Bununla birlikte bazı elementlerin hassasiyeti daha sıcak alev ortamında azaldığından azot protoksit alevini her zaman kullanmak mümkün değildir.

Grafit fırın tekniğinde ise matriks modifikasyonu ile spektral girişimler azaltılabilir. Tayin elementini daha kararlı yapmak veya matriks bileşenlerinin daha uçucu olmalarını sağlamak için örneğe yüksek konsantrasyonda bir reaktif ilave edilerek (matriks modifier) atomlaşma basamağından önce iyi bir ayırım gerçekleştirilir. Spektral girişimleri azaltmanın diğer bir yolu da analiz elementini içermeyen fakat diğer matriksleri içeren ve örnek ile aynı zemin absorpsiyonunu oluşturan bir boş (blank) numunenin hazırlanarak absorbansının ölçülmesidir. Bu işlem pratikte çok kullanılmaz. Çünkü sentetik olarak blank numune hazırlanması her bir bileşenin

yüksek saflıkta olması gerektiğinden oldukça zordur. Ayrıca örnekten örneğe bileşenlerin kompozisyonu farklılık gösterir.

Spektral girişimler aletsel olarak da düzeltilebilir. Gerçek aletsel zemin düzeltme yöntemleri şu şekilde sıralanabilir:

(i) Çift hat yöntemi

(ii) Self absorpsiyonla zemin düzeltme yöntemi

(iii) Sürekli ışın kaynaklı zemin düzeltme yöntemi

(iv) Zeeman etkili zemin düzeltme yöntemi

2.6.1.1 Çift hat yöntemi

Çift hat yönteminde, tayin elementinin rezonans hattında toplam absorpsiyon (atomik ve zemin absorpsiyonu) ölçülür. Daha sonra başka bir elementin oyuk katot lambası kullanılarak tayin elementinin absorpsiyon yapmadığı ama absorpsiyon dalga boyuna en yakın dalga boyunda zemin absorpsiyonu ölçülür. Çift hat yönteminin otomatik ve hızlı bir şekilde uygulanması için iki kanallı atomik absorpsiyon spektrofotometresi kullanılmalıdır. Birinci kanala yerleştirilen monokromatörde analiz elementinin absorpsiyon dalga boyu seçilir, ikinci kanala yerleştirilen monokromatörde zemin sinyali düzeltilmesi için dalga boyu seçilir. Bu yöntemde karşılaşılan sorunlardan biri en uygun ve yakın dalga boyunu bulmaktır. Özellikle grafit fırında zemin sinyalinin sabit olmaması yöntemin başarısını engeller.

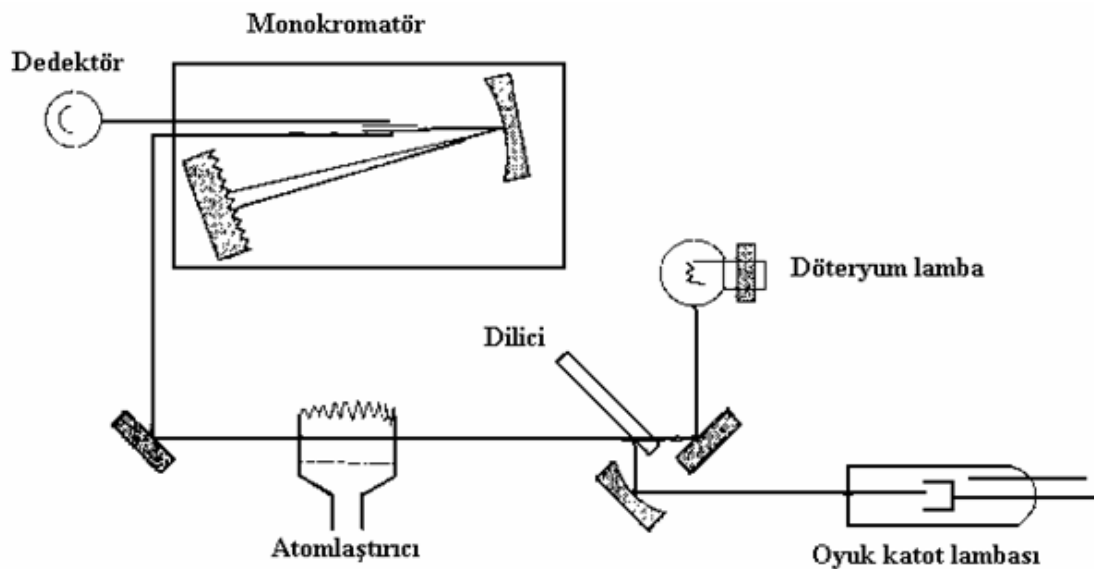
2.6.1.2 Self absorpsiyonla zemin düzeltme yöntemi

Self absorpsiyonla zemin düzeltme yöntemi, yüksek akım uygulaması ile katot lambasından yayılan ışının self absorpsiyon veya self reversal yapması prensibine dayanır. Oyuk katot lambasına yüksek akım uygulandığında büyük miktarda uyarılmamış atom üretilir ve bunlar uyarılmış atomlardan gelen ve yüksek akım nedeniyle genişlemiş emisyonun bandının merkezinin absorplanmasını (self reversal) sağlar. Ayrıca yüksek akım uyarılmamış türlerin emisyon bandı belirgin bir şekilde genişletmektedir. Sonuçta absorpsiyonun meydana geldiği orta kısmın minimum olduğu bir bant oluşur.

Düzeltilmiş absorbans ölçmek için lambanın birkaç milisaniye düşük akımda çalışması için program yapılır ve daha sonra yaklaşık 300 μ s yüksek akım uygulanır. Düşük akım uygulandığında toplam absorbans yüksek akım uygulandığında ise zemin absorpsiyonu ölçülür. Elektronik aletler ile toplam absorpsiyondan zemin absorpsiyonu çıkartılır ve düzeltilmiş değer elde edilir.

2.6.1.3 Sürekli ışın kaynaklı zemin düzeltme yöntemi

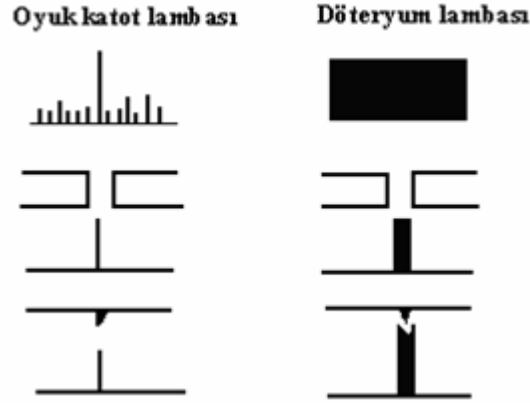
Sürekli ışın kaynaklı zemin düzeltme yönteminde, spektrofotometreye oyuk katot lambasına ek olarak döteryum veya halojen lambası gibi geniş bir dalga boyu aralığında sürekli ışına yapabilen bir ışın kaynağı yerleştirilir. Bu ışın kaynağı ile spektrofotometrenin spektral genişliği (0.2-0.7 nm) içinde zemin absorpsiyonu ölçülür. Temel bir ışın kaynağıyla elementin rezonans hattındaki toplam absorbans değeri ölçülür. İki lambadan elde edilen absorbans değerleri aletsel olarak çıkarılır. Şekil 2.11’de sürekli ışın kaynaklı zemin düzelticili bir atomik absorpsiyon spektrofotometresi şematik olarak gösterilmiştir. Burada dilicinin görevi, oyuk katot lambasından ve sürekli ışın kaynağından gelen ışının atomlaştırıcıdan sıra ile geçmesini sağlamaktır.



Şekil 2.11 : Sürekli ışın kaynaklı zemin düzelticili bir atomik spektrofotometresinin şematik gösterimi.

Şekil 2.12’de döteryum lambası (D_2) kullanılarak zemin engellemelerinin düzeltilmesi gösterilmiştir. Slit genişliği belirli bir aralıkta tutularak sürekli ışın kaynağından gelen ışının örnek atomları tarafından absorplanan kesrinin önemsiz bir

miktarda olması sağlanır. Öte yandan oyuk katot lambasından gelen dar emisyon hattı analiz elementinin absorpsiyonu yanında zemin absorpsiyonundan da etkilenirken sürekli ışın kaynağının geniş emisyon bandı yalnız zemin absorpsiyonundan etkilenir. Sürekli ışının absorbansı (zemin absorpsiyonu) oyuk katot lambanın absorbansından (zemin+atomik absorpsiyon) çıkarıldığında düzeltilmiş atomik absorbans değerleri elde edilmiş olur.



Şekil 2.12 : Döteryum lambası (D_2) ile zemin engellemelerinin düzeltilmesi sabit olmaması yöntemin başarısını engeller.

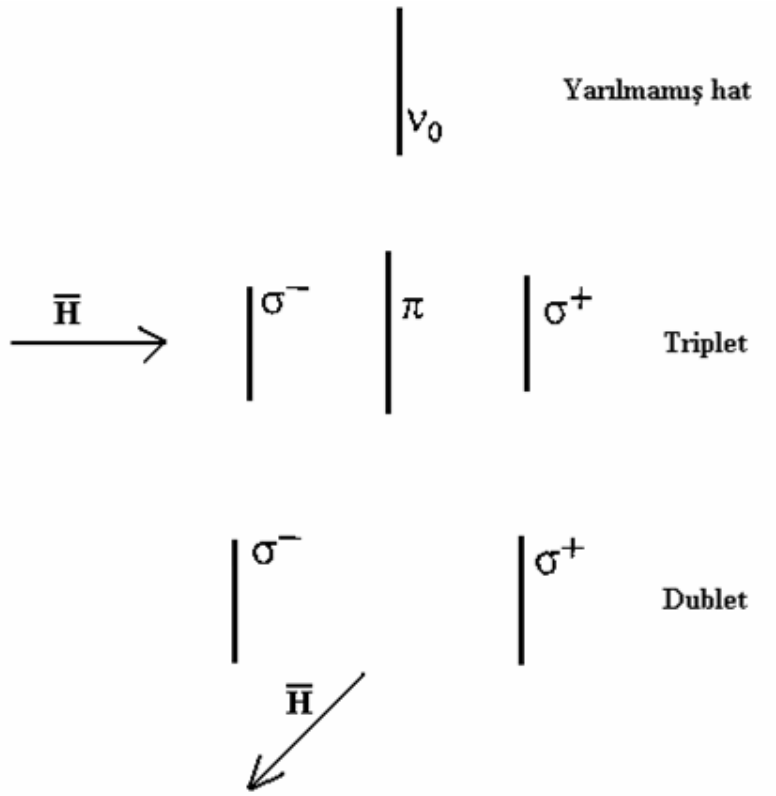
2.6.1.4 Zeeman etkili zemin düzeltme yöntemi

Bir atomik spektrum hattının kuvvetli bir manyetik alana maruz bırakıldığında birbirinden az farklı dalga boylarındaki bileşenlerine ayrılması olayına “Zeeman etkisi” denilir. Bileşenlerin sayısı elemente bağlı olarak değişmektedir. Zeeman etkisi, normal Zeeman etkisi ve anormal Zeeman etkisi olmak üzere iki grupta toplanır.

Normal Zeeman etkisinde atomun yayılan veya absorplanan hattı bir manyetik alan etkisiyle üç bileşene ayrılır (Şekil 2.13). Merkez bileşen, π , manyetik alana paralel polarize ve orijinal absorpsiyon hattı ile aynı dalga boyundadır. Diğer iki bileşen σ^+ ve σ^- merkez bileşenin her iki tarafında eşit dalga boyunda uzaklıkta ve manyetik alana dik düzlemde polarizedir. Kaymanın derecesi uygulanan manyetik alanın kuvvetine bağlıdır. Bu üç bileşenin şiddetinin toplamı daima orijinal şiddete (etkilenmemiş hat) eşittir. Normal Zeeman etkiye göre spektral hatların üç bileşene ayrılması sadece singlet hatlı atomlarda ($s=0$ olan terimler) gerçekleşir. Singlet hatlar

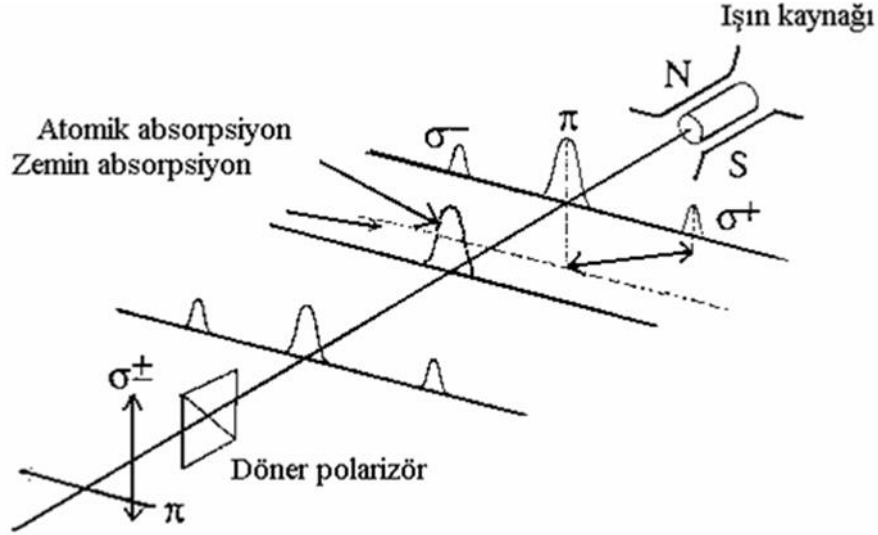
toprak alkali metallerin (Be, Mg, Ca, Sr, Ba) ve çinko grubu metallerin (Zn, Cd, Hg) esas rezonans hatlarıdır.

Anormal Zeeman etkisinde ise bileşen sayısı üçten fazladır yani π ve σ bileşenleri çok sayıda bileşene yarılır. σ bileşenlerinin dalgaboyundaki kaymaları, hem normal hem de anormal Zeeman etkisinde uygulanan manyetik alan ile orantılı olarak değişmektedir.



Şekil 2.13 : Işın kaynağına manyetik alanın uygulandığı Zeeman AAS tekniği.

Işın kaynağına yeterince güçlü bir manyetik alan uygulanırsa σ bileşenleri bir elektrotermal atomlaştırıcı veya alevli atomlaştırıcıda oluşmuş olan atomik buharların absorpsiyon profilinin dışına kaymaktadır. Böylece rezonans hattın oluşan π bileşenleri hem atomik hem de atomik olmayan türler tarafından absorplanırken σ bileşenleri sadece atomik olmayan türler tarafından azaltılmaktadır. Atomlaştırıcıdan sonra yer alan döner bir polarizör sırası ile π ve σ bileşenlerini monokromatörden geçirir. π ve σ bileşenlerinin absorpsiyonlarının birbirinden çıkarılması ile düzeltilmiş atomik absorpsiyon sinyalleri elde edilir (Şekil 2.14).



Şekil 2.14 : Işın kaynağına manyetik alanın uygulandığı Zeeman AAS tekniği.

Bu tekniğin avantajları şu şekilde sıralanabilir:

- (i) Sadece bir ışın kaynağı kullanılır.
- (ii) Sadece UV bölgesinde çalışan zemin düzeltici ışın kaynakları ile sınırlı değildir.

Dezavantajları ise:

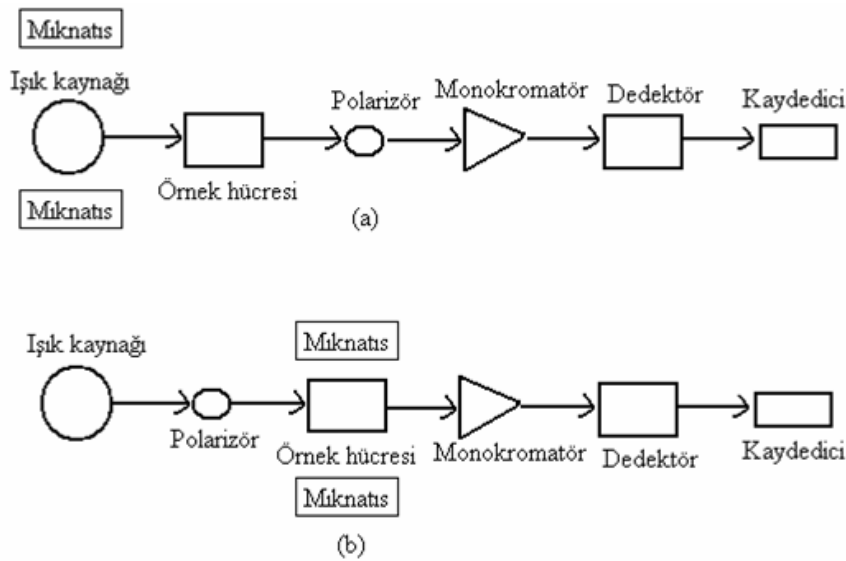
- (i) Sıradan atomik absorpsiyon spektrometrelerindeki gibi ışın kaynağından gelen başka hatlar olmamalıdır.
- (ii) Özellikle zemin değerinin büyük olduğu durumlarda zayıf düzeltme olacağından, zemin değeri doğrudan ölçülmez.
- (iii) Kuvvetli manyetik alanda oyuk katot lambasını çalıştırmak çok zordur. Bu nedenle özel ışın kaynaklarına ihtiyaç duyulur. Ticari aletlerde bu yöntem pek sık kullanılmaz.

Diğer bir Zeeman düzeltme yönteminde ise manyetik alan, ışın kaynağına dikey yönde elektrotermal atomlaştırıcı veya alev ile oluşturulmuş atomik buhara uygulanır. Atomik absorpsiyon hattının σ bileşenleri kaynaktan gelen rezonans ışığı absorplamayacak kadar kaydırılır. Uygun bir optik polarizörün kullanılması ile oyuk katot lambadan gelen ışın sırasıyla manyetik alana paralel veya dik düzlemde polarize olabilmektedir. Manyetik alana paralel polarize rezonans ışın absorpsiyon hatlarının π bileşeni tarafından absorplanır. Buna karşılık manyetik alana dikey polarize olmuş rezonans ışın atomik absorpsiyon hattının σ bileşenleri ile çalışmamaktadır ve σ bileşenlerinin absorpsiyonu söz konusu değildir. Absorpsiyon ortamdaki atomik olmayan türler tarafından ışının saçılması ve moleküler

absorpsiyon rezonans ışın kaynağının her iki polarizasyonu için eşit olacaktır. Düzeltilmiş atomik absorpsiyon sinyali her iki polarizasyon için ayrı ayrı absorpsiyonların ölçülüp birbirinden çıkarılması ile elde edilir (Şekil 2.14).

Diğer bir yöntemde ise atomlaştırıcıya kesikli olarak manyetik alan uygulanır. Fırın içindeki analiz elementine ani bir manyetik alan uygulanacak olursa atomik ve zemin absorpsiyonu ölçmek için primer rezonans hattın kullanılmasıyla ideal zemin değeri gözlenir. Manyetik alan uygulanmadığı durumda ise atomik ve zemin absorpsiyonu birlikte ölçülmüş olur. Böylece atomik absorpsiyon hattının σ bileşenleri orijinal rezonans hattın kayma yapar ve polarizör ile π bileşenine engel olunur. Böylece sadece zemin absorpsiyonu ölçülür. İki okuma değeri arasındaki fark atomik absorpsiyona eşittir. Atomlaştırıcıya uygulanan Zeeman düzeltme yönteminde hem moleküler hem de atomik absorpsiyon aynı dalga boyunda ölçülür. Bu nedenle atomik absorpsiyon hattında moleküler absorpsiyonun ani değişimi nedeniyle diğer düzeltme yöntemlerinde ortaya çıkan hatalar bu yöntemde gözlenmez.

Zeeman etkisinin ışın kaynağına veya atomlaştırıcıya uygulanışı Şekil 2.15’da şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.15 : Zeeman etkili cihazların genel şematik gösterimi (a) Işın kaynağına manyetik alanın uygulanışı (b) Atomlaştırıcıya manyetik alanın uygulanışı.

2.6.2 Spektral olmayan girişimler [12, 28]

Spektral olmayan girişimler analiz elementinin sinyalini doğrudan etkiler. Atomik absorpsiyon spektrometrisi numune ve referans absorbanslarının karıştırılması prensibine dayanan bir yöntem olduğundan örnek içindeki analiz elementinin davranışının referansinkinden farklı olması girişime neden olur. Ancak oluşan bu girişimlerin nedeni tam olarak belli değildir.

Spektral olmayan girişimler örneğin özelliklerine bağlı olarak fiziksel, iyonlaşma ve kimyasal olarak sınıflandırılır.

Fiziksel girişimler, analizi yapılacak maddenin ve referans maddesinin viskozite, yüzey gerilimi ve yoğunluk gibi fiziksel özelliklerinin farklı olması durumunda oluşur. Bu tür girişimler örnek absorbansının referansa (standart) göre hem daha büyük hem de daha küçük çıkmasına neden olabilirler yani hem negatif hem pozitif olabilir. İç standart yöntemi kullanılarak ve örnek ile referans çözeltilerin özellikleri standart ekleme yöntemi ile birbirine benzetilerek fiziksel girişimler engellenebilir.

İyonlaşma girişimleri, atomlaştırıcıda atomların önemli bir miktarının uygulanan sıcaklıkla iyonlaşması sonucu ortaya çıkar. İyonlaşma genellikle, atomlaştırıcı sıcaklığının çok yüksek olduğu durumlarda olduğundan atomlaşma sıcaklığı düşürülerek iyonlaşma bir ölçüde engellenebilir. Fakat sıcaklık düşürüldüğünde de birçok element atomlaşamaz dolayısıyla sıcaklığı düşürmek de tam bir çözüm değildir. İyonlaşma girişimlerini azaltmanın bir diğer yolu ise standart ve örnek çözeltilerine iyonlaşma enerjisi düşük olan başka elementin ilave edilmesiyle ortamdaki elektron basıncının artırılması ve böylece elementin iyonlaşma veriminin azaltılmasıdır.

Tayin elementinin moleküler halde buharlaşması ve oluşan atomların gaz fazında bulunan diğer atom ve radikallerle hemen tepkimeye girerek absorpsiyon ortamında yeteri kadar uzun kalmaması sonucu kimyasal girişimler meydana gelmektedir. Bu tür girişimler kimyasal çevrenin değiştirilmesi ve grafit fırının sıcaklığının artırılması sonucunda engellenebilmektedir. Bu önlemler uygulanmadığında tayin edilecek element kompleks oluşumu ile korunabilir veya örnek çözeltiye aşırı miktarda başka bir katyon eklenerek girişim yapan anyonun bu eklenen katyona

bağlanması sağlanır. Kimyasal girişimleri engellemenin diğer bir yolu ise standart çözeltilere engelleyici iyonlar ilave edip örnek ve standart matriksi birbirine benzetmektir.

3. AĞIR METALLERİN UZAKLAŞTIRILMASINDA BİYOSORPSİYON YÖNTEMİ

3.1 Adsorpsiyon

Adsorbsiyon, akışkan fazda çözünmüş haldeki belirli bileşenlerin bir katı adsorban yüzeyine tutunmasına (transferine) dayanan ve faz yüzeyinde görülen bir ayırma yöntemidir. Katı örgüsü içinde bulunan iyonlar çekim kuvvetlerince dengelenmiştir. Ancak katı yüzeyindeki atomların dengelenmemiş kuvvetleri, çözeltideki maddeleri katı yüzeyine çekerler ve yüzey kuvvetleri dengelenmiş olur. Bu şekilde çözeltideki maddelerin katı yüzeyine adsorbsiyonu gerçekleşir. Katı yüzeyinde tutunma işleminin gerçekleşebilmesi için, çözünmüş maddenin çözeltiden uzaklaştırılması, çözücünün katı yüzeyden uzaklaştırılması ve çözünmüş maddenin yüzeye tutunması gerekmektedir.

Tutunan taneciklerin yüzeyden tekrar ayrılmasına desorbsiyon, katıya adsorblayıcı madde (adsorban), katı yüzeyinde tutunan maddeye ise adsorblanan madde (adsorbat) adı verilir [29, 30, 31].

Adsorbsiyon ile absorbsiyon farklı iki olaydır. Absorbsiyon, çeşitli maddelerin bir faz yüzeyinde değil de özümленerek o faza nüfus etmesine denir. Her iki olay yani adsorbsiyon ve absorbsiyon olayının birbirinden ayırımının tam olarak yapılamadığı durumlarda, genel bir terim olan sorbsiyon terimi kullanılır [32].

3.2 Adsorpsiyonun Sınıflandırılması

Adsorban yüzeyi ile adsorbat arasındaki kimyasal çekim kuvvetlerine bağlı olarak gerçekleşen üç tür adsorbsiyon işlemi tanımlanmaktadır.

3.2.1 Fiziksel adsorpsiyon

Katı yüzey ile adsorblanan madde molekülleri arasındaki çekim kuvvetleri sonucu oluşan adsorbsiyon olayıdır. Adsorbsiyon sonucu yoğunlaşma enerjisinden biraz fazla ısı açığa çıkar. Adsorbsiyon ısı 4 kcal/mol (20 kJ/mol)' den düşük etkileşimler sonundaki tutunmalara fiziksel adsorbsiyon denir. Fiziksel adsorbsiyon sırasında atom, molekül ya da iyon şeklindeki adsorblanan tanecikler ile katı yüzeyi arasında uzun mesafeli fakat zayıf olan Van Der Waals çekim kuvvetleri etkindir. Fiziksel adsorbsiyonda gaz ya da sıvı moleküllerinin katı yüzeyine Van der Waals kuvvetleriyle tutunması çok tabakalı olabilmektedir. Tüm fiziksel adsorbsiyonlar ekzotermiktir. desorblayan-adsorblanan ikilisinin türüne bağlı olmayan fiziksel adsorbsiyon tersinir bir olaydır; yani adsorbsiyon meydana geldikten sonra desorpsiyon da meydana gelir. Düşük sıcaklıklarda gerçekleştiğinden, sıcaklık arttıkça adsorbsiyon hızı azalır [33, 34, 35].

3.2.2 Kimyasal adsorpsiyon

Adsorblanan madde ile katı yüzey arasındaki fonksiyonel grupların kimyasal etkileşimi ile oluşan adsorbsiyondur. Adsorbsiyon sırasında açığa çıkan ısı tepkime ısısından daha büyüktür (E_A , 4-100 kcal/mol (20-400 kJ/mol) aralığında). Kimyasal adsorbsiyon sırasında tanecikler ile yüzey arasında bir kimyasal bağ ve de genellikle kovalent bağ oluşmaktadır. Çoğu kimyasal adsorbsiyonlar ekzotermik olduğu halde hidrojen gazının cam üzerinde tutulması gibi bazı kimyasal adsorbsiyonlar endotermik olabilmektedir. Kimyasal adsorbsiyon yalnızca tek tabakalı olarak gerçekleşmektedir. Adsorblanan-adsorblayan ikilisinin türüne bağlı olan kimyasal adsorbsiyon, tersinmez bir olaydır. Yüksek sıcaklıklarda gerçekleştiğinden, sıcaklık arttıkça adsorbsiyon hızı da artar [33, 35, 36].

3.2.3 İyonik adsorpsiyon

Yüzeydeki yüklü bölgelere, elektrostatik kuvvetler işe çözültideki iyonik karakterde adsorplananların çekilmesi sonucu oluşur. Adsorpsiyon adsorbent ve adsorplananların iyonik güçleri ve moleküler büyüklüklerine göre seçimli olarak oluşur. Eş yüklü iyon durumunda küçük iyon tercih sebebidir. Yüzeye tutunan iyonlara eş yüklü başka iyonların, aynı anda yüzeyi terk etmesi halinde ise, sürece iyon değişimi adı verilir.

Pek çok farklı özelliklerine rağmen, çoğu durumda fiziksel, kimyasal ve iyonik adsorpsiyon arasında kesin bir ayırım yapılamaz, kimi kez birlikte veya ard arda oluşurlar [37, 38].

3.3 Adsorplayıcı Katılar

Metaller ya da plastikler de dahil olmak üzere bir kristal yapıya sahip olsun ya da olmasın tüm katılar az ya da çok adsorblama gücüne sahiptirler. Adsorblama gücü yüksek olan bazı doğal katılar, kömürler, killeri, zeolitler ve çeşitli metal filizleri şeklinde; yapay katılar ise aktif kömürler, yapay zeolitler, silikajeller, metal oksitleri, katalizörler ve bazı özel seramikler olarak sayılabilir [39].

3.4 Adsorpsiyona Etki Eden Faktörler

3.4.1 pH

Adsorpsiyon olayının gerçekleştiği çözeltinin pH'ı adsorpsiyonu etkiler. Farklı pH'larda adsorban maddenin yüzey yükü değiştiğinden dolayı adsorpsiyon kapasitesi pH'a bağlı olarak değişir [39].

3.4.2 Sıcaklık

Adsorpsiyon tepkimeleri ekzotermik (ısı veren) tepkimelerdir. Bu nedenle sıcaklık azaldıkça, adsorpsiyon artar. Genellikle açığa çıkan ısı miktarının fiziksel adsorpsiyonda kristalizasyon ısıları düzeyinde, kimyasal adsorpsiyonda kimyasal reaksiyon ısıları büyüklüğünde olduğu bilinmektedir [39].

3.4.3 Yüzey alanı

Adsorbanın fiziko kimyasal yapısının, adsorpsiyon hızı ve kapasitesi üzerinde büyük etkisi olabilir. Adsorpsiyon hızı ve kapasitesi, toplam yüzey alanının adsorpsiyon için uygun olan kısmı olarak tanımlanan, özgül yüzey alanı ile orantılıdır. Adsorbanın gözenekli veya parçacıklı bir yapıya sahip olması tercih edilir. Mikroorganizmalarla iyon adsorpsiyonu da pH, sıcaklık, organizmanın spesifik yüzey özellikleri gibi adsorpsiyonu etkileyen faktörlerden etkilenir [39].

3.4.4 Adsorplanan madde ve çözücünün özellikleri

Çözünmüş madde çözücü sistemine ne kadar kuvvetle bağlanmışsa, yani hidrofobik özellikleri ne kadar zayıf ise, yüzeye tutunma eğilimi o kadar az olur. İnorganik bileşikler genellikle hidrofilik yapılarından dolayı az, hidrofobik maddeler ise tercihi olarak daha çok adsorplanır. Bir diğer faktör ise polaritedir. Polar bir çözünen daha polar olan çevreyi seçer. Dolayısıyla polar bir çözünen, polar bir adsorban tarafından polar olmayan bir çözücünden daha iyi adsorplanır [40].

3.5 Adsorpsiyon Uygulamaları

Gaz ve sıvı fazdan adsorpsiyonunu belli başlı kullanım alanları sırasıyla aşağıda verilmektedir [41]:

- a) Toksik gazların, kokuların ve aerosollerin uzaklaştırılması için baca veya egzoz gazlarının temizlenmesi,
- b) Bir buharlaştırıcıdan terk eden gazlardan çözücünün geri kazanımı,
- c) Gazların fraksiyonu,
- d) Yakıt ve yağlama yağlarının, organik çözücülerin, bitkisel ve hayvansal yağların renklerinin giderimi ve kurutulması,
- e) Fermantasyon ürünleri ve bitki özütlerinden biyolojik kimyasalların (antibiyotikler, vitaminler, tatlandırıcılar) geri kazanılması,
- f) İlaç ürünleri ve besinlerin arıtılması,
- g) Ham seker şuruplarının renginin giderimi,
- h) Kirlilik kontrolü için süreç atıklarının saflaştırılması,
- i) Koku, lezzet ve renk iyileştirme için su sağlama ön işlemi,
- j) Aromatik veya alifatik hidrokarbonların ayrılması.

3.6 Biyosorpsiyon

Adsorpsiyon prosesi, ağır metal iyonlarını gidermek için geniş bir uygulamaya sahiptir. Aktif karbon 30 yıl boyunca endüstriyel atık suların arıtılmasında standart sorbent olarak kullanılmıştır.

Atık suların arıtılmasında çok uzun süre kullanılmış olmasına rağmen aktif karbon pahalı bir materyal olmuştur. Son yıllarda, aktif karbondan veya diğer geleneksel adsorbanlardan daha ucuz alternatif biyosorbentler geliştirilmektedir [43].

Atık sulardan toksik metallerin arıtımını içeren yeni teknolojiler için araştırmalar son yıllarda biyosorpsiyona doğru kaymaktadır. Biyosorpsiyon çeşitli biyolojik materyallerin metal bağlama kapasitelerinin belirlenmesini içermektedir. Biyosorbsiyon atıksulardan metabolik olarak veya fizikokimyasal yollarla biyolojik materyallerin ağır metalleri biriktirebilme yeteneği şeklinde tanımlanabilir. Alg, bakteri mantar ve mayalar potansiyel metal biyosorbentleridir [43].

Biyosorpsiyonda sorbent olarak kullanılan malzemeye biyosorbent denmektedir [44]. Yaşayan (canlı) veya yaşamayan (ölü) mikroorganizmalar seçici olarak atık sulardaki inorganik iyonları biriktirme ve ayırmada yüksek bir potansiyele sahiptir. Mikroorganizmaların üreme ve metali bağlamada ortam koşullarının aynı olmaması, ayrıca metal derişimlerinin çok yüksek olduğu veya metal iyonlarının önemli miktarlarının mikroorganizma tarafından adsorbe (ve az miktarda absorbe) edildiği zaman, mikroorganizma üremesinin inhibe oluşu, canlı sistemlerle çalışmada önemli kısıtlamalar getirmektedir. Bu sebeplerle ölü mikroorganizmaların metal sorpsiyonunda kullanımı düşünülmüş, yaşamayan biyokütlenin yaşayan hücrelerinden daha fazla miktarda metali sorpladığı gözlenmiştir. Hemen bütün organizmaların yüzeyi negatif yüklü olduğundan pozitif yüklü metal iyonlarını (Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Hg^{2+} , $\text{Cr}^{3+}/\text{Cr}^{6+}$, $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ vs.) bağlama etme yeteneğine sahiptirler [42].

Biyosorpsiyonda çok geniş canlı olmayan biyokütle örneğin; ağaç kabuğu, lignin ve fıstık kabuğu, yaşayan biyokütle örneğin; mantar, bakteri, maya, yosun, su bitkileri ve alg kullanılabilmektedir [42].

Metal biyosorpsiyon deneyleri için biyokütle seçerken, biyokütlenin kaynağı en büyük faktör olarak göz önüne alınmalıdır. Biyokütle kaynakları;

- i) Endüstriyel atıklar
- ii) Doğada çok miktarda bulunan organizmalar
- iii) Hızlı büyüyen, yetiştirilebilen veya biyosorpsiyon amaçlı üretilen organizmalar olmalıdır [42].

Bazı çalışmalarda biyokütle kolaylıkla sağlanırken bazılarında ise bir takım spesifik mikroorganizmalar izole edilerek biyosorblama özelliklerini arttırmak için ham biyokütleyle aşılanmışlardır.

Son yıllarda yapılan biyosorbsiyon deneyleri atık maddeler üzerine yoğunlaşmıştır. Bunlar büyük ölçekli endüstriyel proseslerden gelen atık maddeler veya yan ürünlerdir. Atıklar, fermantasyon proseslerinden, yağ fabrikası katı atıklarından [45], arıtma tesislerindeki aktif çamurdan [46], biyokütlelerden [47] ve sucul makrofitlerden (bitki) [48] sağlanmaktadır.

Norton ve arkadaşları (2003), çinkonun biyosorpsiyon için arıtma tesisinden susuzlaştırılmış atık aktif çamur kullanmışlardır. Adsorbsiyon kapasitesi $0,564 \text{ mg}^{-1}$ biyokatı olarak belirlenmiştir. Çinko sorpsiyonu için biyokatı kullanımı, deniz yosunu *Durvillea potatorum* ile sorpsiyon hızı $0,299 \text{ mg}^{-1}$ biyokütle ile karşılaştırıldığında tercih edilebilir [47]. Keskinan ve ark.(2003), sucul bitki *Myriophyllum Spicatum*'da bakır, çinko ve kurşunun sorbsiyon karakteristiklerini incelemişlerdir [48]. Pagnanelli ve arkadaşları (2002), ağır metal sorbent materyali olarak yağ ve fabrika atıklarını kullanarak bir ön çalışma yürütmüşlerdir. Çalışmanın sonuçları, bakırın farklı işletim koşulları altında $5,0 \text{ mg g}^{-1}$ ile $13,5 \text{ mg g}^{-1}$ arasında maksimum adsorblandığını göstermektedir [45]. Hammains ve arkadaşları (2003), kurutulmuş aktif çamurda bakır, kadmiyum ve çinkonun birlikte biyosorbsiyon kapasitesi Cu-Cd metal sistemi için $0,32 \text{ mmol g}^{-1}$, Cu-Zn metal sistemi için $0,29 \text{ mmol g}^{-1}$ ve Cd-Zn metal sistemi için $0,32 \text{ mmol g}^{-1}$ 'dir. Sonuçlar biyokütlenin bakır, kadmiyum ve çinkoyu sırasıyla tercih ettiğini göstermektedir [46].

3.6.1 Biyosorpsiyon dış yüzey özellikleri

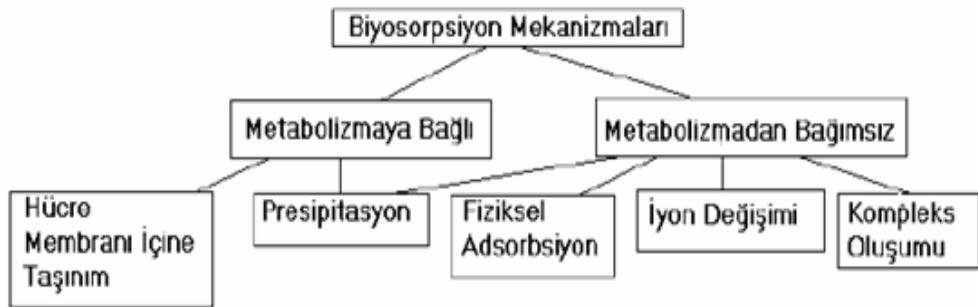
Metallerin biyosorpsiyonunda kullanılan organizmaların yüzey alanı özelliklerinden en önemli olanları büyük ve negatif yüklü olmalarıdır [49].

Bakteri hücre duvarı, kimyasal bileşikler içerir ve bu bileşikler metalleri pasif olarak tutabilir [50, 51]. Alg [51, 52, 53] ve bakteri [51, 54, 55] gibi organizmalar veya biyopolimerler [51, 56, 57] gibi moleküller tarafından metal bağlama ile biyosorpsiyona çok sayıda kimyasal grubun katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bu gruplar; hidroksil, karbonil, karboksil, sülfidril, thioeter, sülfonat, amin, imin, amid, imidazol, fosfonat ve fosfodiester'dir [51].

Belli biyokütle ile belli bir metalin biyosorpsiyonu için herhangi bir grubun önemi şu faktörlere bağlıdır; biyosorbentteki aktif bölge sayısı, bölgelerin kimyasal yapısı, bölge ve metal arasındaki çekim (bağlanma kuvveti) [51]. Kovalent metal bağlama için, teorik olarak aktif bölge mevcuttur. Verilen metalin hangi bölgeyi kullanacağı metalin bağ yapma kuvvetine ve konsantrasyonuna bağlıdır. Eğer metal iyon halindeyse elektrostatik metal bağlama bölgesi mevcuttur [51].

3.6.2 Biyosorpsiyon mekanizmaları

Metal iyonlarının biyosorpsiyonu genel olarak; adsorbsiyon, iyon değiştirme, kompleks oluşumu, mikro çökeltme, indirgenme, metilasyon, çözünürlük, biyoakümülyasyon olaylarını ihtiva etmekte olup, hızlı ve tersine döndürülebilen bir olaydır [58].



(a)



(b)

Şekil 3.1 : Biyosorpsiyon mekanizmaları (a) Hücre metabolizmasına bağlı olup olmadıklarına göre (b) Metalin giderileceği yere göre.

Mikroorganizmalarla metal adsorpsiyon kinetiği iki basamaktan oluşur (Şekil 3.1):

1.basamak: Organizma yüzeyinde fiziksel adsorpsiyon veya iyon değişimidir. Bu basamağa genellikle pasif giderim denir. Bu basamak çok hızlıdır ve mikroorganizma metal ile etkileştikten sonra dengeye ulaşılır. Hızlı giderme genellikle yüzey adsorpsiyonu sonucudur. Mikroorganizmanın, sulu ortamlardan hücre yüzeyine metal bağlanmasını açıklamaya çalışan çeşitli hipotezler ileri sürülmektedir:

-Metal iyonları hücre yüzeyindeki negatif yüklü reaksiyon alanları ile kompleks oluşturarak ve/veya pozitif yüklü reaksiyon alanları ile yer değiştirerek adsorplanabilir. Bu olaya iyonik adsorpsiyon adı da verilir. Hücre duvarındaki polisakkaritler; sülfat, amino, ve karboksil gruplarını içerir. Alkali polisakkaritlerin çoğu, örneğin kahverengi ve kırmızı deniz alglerinin yapısal bileşeni sodyum, potasyum, kalsiyum ve magnezyum gibi metal katyonlarının tuzlarından oluşmaktadır. Çift değerlikli metal iyonları, polisakkaritlerin aynı yüklü iyonlarıyla yer değiştirir. Alg yapısında bulunan sodyum aljinatın metal iyonu ile yer değiştirmesi aşağıdaki mekanizmayla oluşur.

-İkinci hipotez ise, bazı mikroorganizmaların hücrelerinin dış zarlarından uzanan polimerler sentezleyebildikleri, bu polimerlerin çözeltilerden metal iyonlarını bağlayabilme yeteneğine sahip olduklarıdır.

-Hücre duvarındaki proteinler metali bağlamak üzere aktif bölgeler oluştururlar. Ağır metallerin proteinlere karşı kuvvetli ilgisi vardır. Proteinlerin peptit bağlarının azot ve oksijeni, hidroksil, amino, fosfat gibi grupları, iyonların, metal iyonları ile yer değiştirmesi için uygundur. Proteinlerin en küçük molekül birimleri aminoasitlerdir. Her aminoasit çözeltisi için, asit ve baz etkilerinin birbirine eşit olduğu, çift iyon derişiminin maksimum, anyon ve katyon derişimlerinin ise minimum olduğu bir pH değeri vardır. Bu pH'a izoelektrik nokta adı verilir. Pozitif yüklü metal iyonları izoelektrik noktanın altında katyonik karakter taşıyan protein molekülünün içerdiği grupların aynı yüklü iyonlarıyla yer değiştirerek, izoelektrik noktanın üstündeki pH'larda ise negatif yüklü reaksiyon alanlarıyla kompleksler oluşturarak absorplandıkları düşünülebilir.

Bu durumda birinci ve üçüncü hipotezin birbirini izleyen veya çift iyon durumunda birlikte oluşan iki adsorplama mekanizması olması mümkündür.

-Bazı mikroorganizmaların yüzeylerinde yüksek molekül ağırlıklı polifosfatlar veya kimyasal olarak bunlara benzeyen gruplar, metali kompleksleri şeklinde kendilerine bağlarlar. Örneğin *Citrobacter cp.* hücrelerinde bulunan organik fosfattan, inorganik fosfatı serbest bırakan fosfataz enzimi ağır metalin, hücreye bağlı metal fosfat olarak çökmesini sağlar.

2.basamak: Metal iyonlarının hücre zarından içeri taşınımını da içeren, metabolik aktiviteye bağlı, daha yavaş, hücre içi giderim basamağıdır. Bu basamağa aktif giderim denir [59, 60].

3.6.3 Biyosorpsiyonu etkileyen faktörler [59, 61-64]

Biyosorpsiyona etki eden faktörlerin başlıcaları; sorbentin yüzey alanı, sorbentin yapısı ve parçaçık boyutu, karıştırma hızı, adsorbatın çözünürlüğü, adsorbat molekül büyüklüğü, ortamın pH değeri ve sıcaklıktır.

Sorpsiyon bir yüzey olayıdır. Bu nedenle maksimum sorpsiyon miktarı spesifik yüzey akımı ile doğru orantılıdır. Spesifik yüzey alanı, toplam yüzey alanının sorpsiyonda kullanılabilir kısım olarak tanımlanır. Bu nedenle belirli ağırlıktaki katı sorbentin sağlayacağı adsorpsiyon miktarı, katının daha küçük parçalara ayrılmış ve

poroz (gözenek) hali için daha büyüktür. Ayrıca adsorpsiyon hızı, adsorbentin partikül boyutu azaldıkça artmaktadır.

Adsorbat molekülünün büyüklüğü, moleküler boyut da sorpsiyonda önemli bir rol oynar. Mikroporların ($d < 2$ nm) hacminde adsorbat içerisinde yer tutması yüzey alanının büyük olmasını sağlayarak, küçük moleküllerin bağlanmasını kolaylaştırır. Adsorbantta makroporların ($d > 50$ nm) geniş hacimde bulunması, hacimce büyük moleküllerin tutulması için daha elverişli bir durumdur.

Adsorpsiyona etki eden en önemli faktörlerden biri sorpsiyon dengesini kontrol eden adsorbatın çözünürlüğüdür. Genel olarak çözünürlük ne kadar büyük olursa adsorbat-çözelti arasındaki bağ o kadar kuvvetli ve sorpsiyon miktarı da o kadar düşük olur.

Metal iyonlarının biyosorpsiyonunda önemli etkenlerden biride biyosorbent materyaline uygulanan ön işlemdir. Metal iyonlarının biyosorpsiyon kapasitelerinin artırılması amacıyla, mikrobiyal biyosorbentlere NaOH, metil alkol, asetik asit, formaldehit, ticari deterjanlar vb. çözeltilerle muamele ettirme, ısıtma, otoklav, sıcak suyla kaynatma vb. ön işlemler uygulanabilmektedir. Cr^{+6} 'nın biyosorpsiyonu için metillenmiş maya biyokütlesi kullanmış ve normal koşullarda hazırlanmış maya biyokütlesi ile metillenmiş biyokütlenin sorpsiyon kapasitelerini karşılaştırmıştır. Bu çalışmada doğal maya biyokütlesine nazaran metillenmiş maya kütlesinin daha fazla sorpsiyon kapasitesi olduğu görülmüştür [64].

Biyosorpsiyonun meydana geldiği çözeltinin pH'sı da çok önemli bir etken olup bir veya birkaç nedenden dolayı sorpsiyon miktarını etkilemektedir. pH biyosorpsiyon prosesinde önemli bir parametredir; metallerin kimyasal çözeltilerini, biyokütledeki fonksiyonel grupların aktivitesini ve metal iyonlarının rekabetini etkiler. Hidrojen (H^+) ve hidroksil (OH^-) iyonlarının kuvvetli bir şekilde bağlanmalarından dolayı diğer iyonların sorpsiyonu çözeltinin pH'sından etkilenmektedir. Metal alımının pH'a bağlı olması sorpsiyon ortamının yüzeyindeki protonlar ve metal katyonları arasındaki rekabetle ilgilidir. Hücre yüzeyleriyle metal arasındaki bu farklı kimyasal etkileşimler sonucunda metal iyonları için çeşitli pH'larda farklı tutma kapasiteleri olabilmektedir. Metal alımı ve pH arasındaki ilişki bakteriyel hücre duvarındaki çeşitli fonksiyonel gruplara bağlı olarak değişmektedir. Farklı pH'larda farklı sorpsiyon hızlarının elde edilmesi metal iyonları ile biyokütle arasındaki kimyasal etkileşimin bir sonucudur. Düşük pH'larda hücre yüzey yükü pozitifdir ve H_3O^+

iyonları hücreye bağlanmak için pozitif metal katyonları ile yarıştıklarından hızı azaltıcı etki gösterirler. Hücrelerin izoelektrik noktaları üzerindeki pH değerlerinde, hücre yüzeyi net negatif yüke sahiptir. Karboksil, fosfat, imidazol ve amino grupları gibi ligandların iyonik hali metal katyonlarının biyokütleyle bağlanmasını hızlandırır.

Sıcaklık biyosorpsiyonu etkileyen diğer bir faktördür. Biyosorpsiyon, sıcaklık artışıyla artarken, sıcaklığın düşmesiyle azalır. Bununda birlikte biyosorpsiyon prosesi, ekzotermik bir proses ise biyosorpsiyonun büyüklüğü azalan sıcaklıkla artacaktır. Sıcaklığın 20-35°C aralığında biyosorbsiyon performansını etkilemediği görülmektedir.

3.6.4 Biyosorpsiyonun diğer ağır metal giderim metodlarıyla karşılaştırılması [42, 59, 60]

Atık sulardan ağır metal gideriminde kullanılan metodlar:

1-Ters Osmoz: Ağır metal içeren atık suların; basınç uygulanarak yarı geçirgen zardan geçirilerek filtrelenmesi işlemidir. Bu metodun dezavantajı pahalı olmasıdır.

2- Elektrodializ: Elektrodializde elektrik yüklü membranlar kullanılır. Katyon veya anyonlar seçici membran tarafından reddedilirler. Bu reddedilen anyonlar elektrodializ hücresinden deşarj edilirler. Membranı tıkayan metal hidroksitler, bu metodun kullanılmasında problem teşkil etmektedir.

3-Ultrafiltrasyon: Atık su belirli gözenek boyutundaki geçirgen zarın bir tarafında basınç altında bulunur. Gözenek boyutundan küçük tüm maddeler membrandan geçer, büyük boyutlular kirli su tarafında kalır. Bu metodun dezavantajı ise çok fazla miktarda çamur oluşumudur.

4- İyon Değişimi: İyon değiştirici reçineler üzerindeki elektrostatik kuvvetlerle tutulan iyonların, çözeltide bulunan metal iyonlarıyla yer değiştirmesine dayanır. Yüksek maliyet ve sadece belli iyonların giderilmesi sistemin dezavantajlarındandır.

5- Kimyasal Çöktürme: Atık sudaki metallerin kimyasal maddelerin yardımıyla yumaklaştırılarak çöktürülmesidir. En önemli dezavantajı toksik bileşenler içeren fazla miktarda çamur oluşumudur.

6- Fotoremediasyon Toprak, sediment ve metal içeren suyun belli bitkiler kullanılarak temizlenmesi işlemidir. Bu prosesin uzun sürmesi ve bitkinin yeniden kullanımının zor olması sistemin dezavantajlarından biridir.

Bu arıtma proseslerinin uygulanması, teknik veya ekonomik zorluklar nedeniyle zaman zaman sınırlandırılır. Yeni teknolojilerin araştırılması biyolojik iyileştirmenin uygulanmasına yöneltmiştir ki bu yöntemle fiziko-kimyasal iyileştirmeden çok daha etkili arıtım sağlanmaktadır. Toksik metallerin atıksulardan giderimini içeren yeni teknolojilerin araştırılmasıyla, farklı biyolojik materyaller ile metal bağlama kapasitesine dayanan “biyosorpsiyon” a verilen önem artmıştır.

Biyosorpsiyonun tüm bu konvansiyonel arıtma metodlarına göre en önemli

Avantajları:

- Düşük maliyet,
- Yüksek verim,
- Kimyasal veya biyolojik çamurun azaltılması,
- İlave nitrüent gereksinimi olmaması,
- Biyosorbentin yeniden kullanılabilmesi,
- Metal geri kazanımı olasılığıdır.

Dezavantajları:

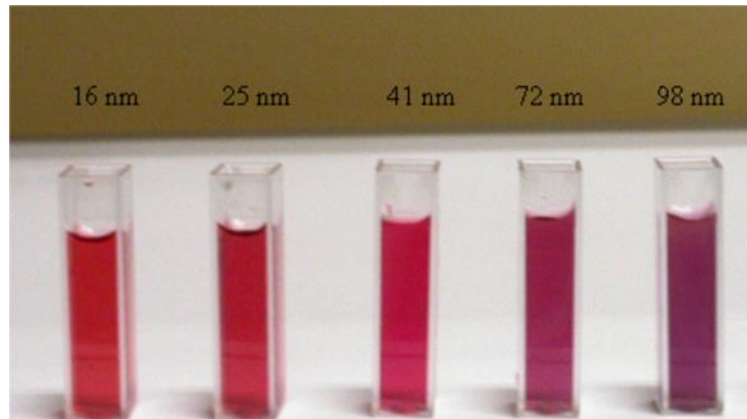
- Hücre yüzeyi çok hızlı bir şekilde metalle doymuş hale gelir. Yüzeyde metali tutan yerler dolduğunda, daha ileri arıtım için, metali desorbe etmek gerekir,
- Ölü hücreler, çökmeyi kolaylaştıran metalin değerliğini biyolojik olarak değiştirme potansiyeline sahip değildir,
- Sorpsiyon pH gibi etkilere duyarlıdır,
- Organometalik türleri, metabolik olarak parçalama potansiyeline sahip değildir.

4. PEPTİT BAĞLI AuNP HAKKINDA BİLGİ

4.1 AuNP'ların Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu

AuNP'lar $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 'nun sodyum trisitat ile indirgenmesiyle elde edilmektedir. Bu yöntem ile sentezlenen AuNP'ların yüzeyleri sitrat iyonları ile kaplandığından suda kararlı bir şekilde asılı kalabilmektedirler. AuNP'lar değişik büyüklüklerde sentezlenebilmektedir. Büyüklükleri indirgen tuzun derişimi değiştirilerek ayarlanabilmektedir. Örneğin, 250 mL % 0.01'lik $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ stok çözeltiden 50'er mL alınarak ısıtılan çözeltilere kaynamaya başlayınca 13 nm'lik Au elde etmek için 1 mL, 25 nm için 0.75 mL, 41 nm için 0.50 mL, 72 nm için 0.30 mL, 98 nm için ise 0.21 mL % 1'lik sodyum sitrat çözeltisi eklenmiş ve karışımlar 15 dakikaya kaynamaya bırakılmışlardır. Hazırlanan AuNP'ları karakterize etmek için UV/Vis spektroskopisi, taramalı veya geçirgenli elektron mikroskopu (SEM veya TEM) ve parçacık büyüklüğünü ve dağılımı ölçen Dinamik Işık Saçılımı (DLS, ZetaSizer) kullanılmıştır.

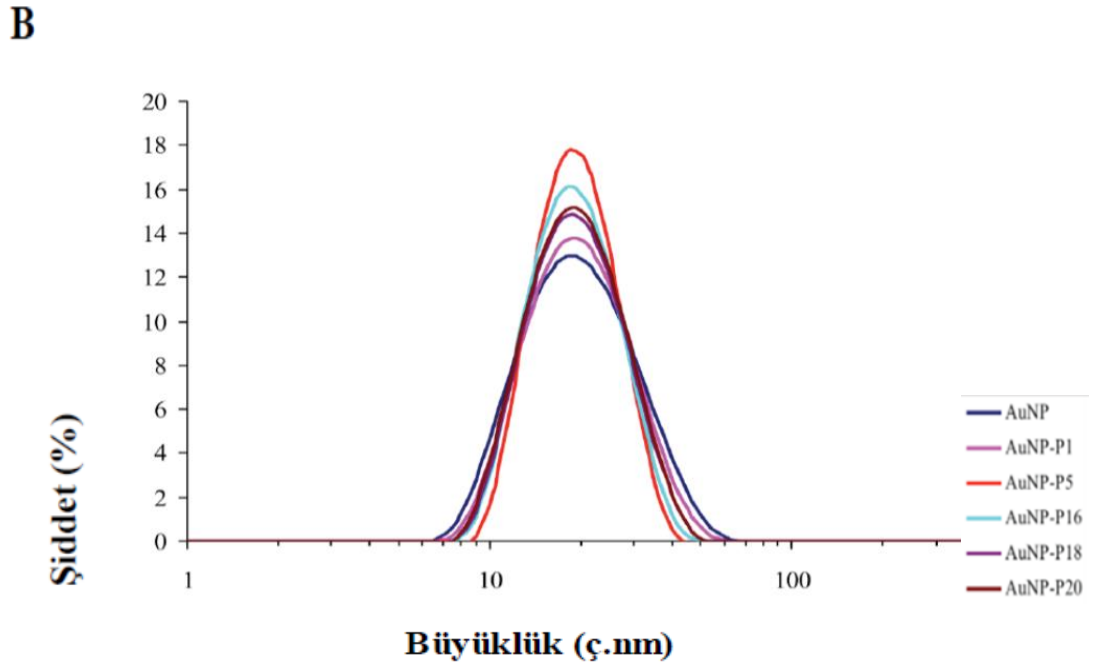
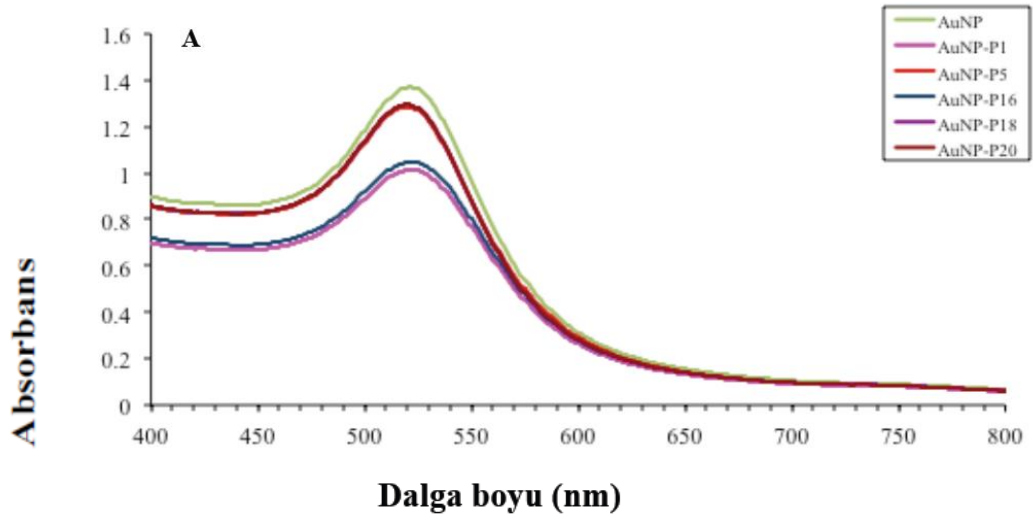
Şekil 4.1'de hazırlanan NP'ları içeren süspansiyonlar görülmektedir. Boyut büyüdükçe AuNP renginin maviye kaydığı görülmektedir. Bu da AuNP'ların absorpsiyon dalga boyunun uzuna (kırmızıya) kaydığını göstermektedir.



Şekil 4.1 : Hazırlanan farklı büyüklüklerdeki AuNP içeren süspansiyonların NP büyüklüğüne bağlı renk değişimi.

4.2 Peptitlerin AuNP'lara Kovalent Bağlanması

Peptidler dizayn edilirken peptidin bir ucuna AuNP yüzeyine kovalent bağlanmayı sağlayacak bir veya iki tane Cys eklenmiştir. Liyofilize olarak gelen peptidlerden (Anaspec, USA) miktarlarına bağlı olarak 10^{-3} M ve 2×10^{-4} M olacak şekilde saf suda çözülerek stok çözeltiler hazırlandı ve -20°C 'de saklandı. AuNP'ların yüzey işlevselleştirilmeleri yapılırken süspansiyon içerisindeki AuNP sayısı $2 \times 10^{11}/\text{mL}$ alınmış ve peptitler eklenirken teorik olarak 13 nm çapındaki bir parçacığın yüzey alanına düşen peptit sayısı hesaplanarak başlangıç derişimi hesaplanmıştır. Bu derişim peptidin büyüklüğüne göre değişiklik göstermektedir. Peptitler NP'ların yüzey kimyasal özelliklerini sistematik olarak değiştirmek için mükemmel yapılardır. Özel olarak dizayn edilen ve sentezletilen peptitler AuNP'lara kimyasal olarak bağlanarak bu işlevselleştirilmiştir. Sitrat ile stabilize olmuş AuNP'lara negatif yüklü peptitlerin kimyasal olarak bağlanması sonucunda AuNP'ların bulunduğu süspansiyonun maksimum absorbans dalga boyunda herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır. Yük sayısının ve peptid uzunluğunda AuNP-peptid yapıların süspansiyon içerisindeki dağılımına çok etkisinin olmadığı görülmektedir. UV/Vis spektrumlarında absorbans şiddetindeki farklılık peptitlerin DLS spektrumundan anlaşıldığı üzere AuNP-peptid yapıların çok azda olsa süspansiyon içerisinde dağılım farklılığından kaynaklandığı sonucuna götürmektedir. DLS spektrumlarındaki hafif daralma peptit uzunluğunun ve yükünün artmasıyla AuNP'ların daha da kararlı hale gelmesiyle açıklanabilir. AuNP-peptid yapıların kolloidal sistem içerisinde yüzey yükleri Çizelge 4.1'da verilmiştir. Görüldüğü gibi hem NP boyutunda hem de yüzey potansiyelinde hafif bir artma söz konusudur.



Şekil 4.2 : Negatif peptitler ile işlevselleştirilmiş AuNP'ların süspansiyonlarının UV/Vis spektrumları (A), DLS spektrumları (B).

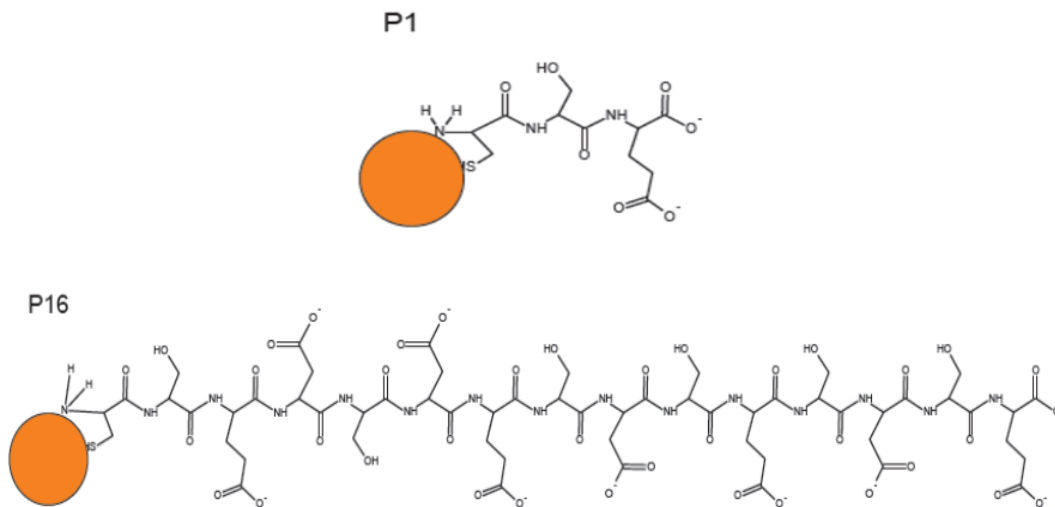
Çizelge 4.1 : Çalışmada kullanılan (a) peptidlerin (C, Cys; S, Se; Glu, E; Asp, D) (b) peptit kaplı AuNP’ların bazı özellikleri.

Peptit	Kod	Amino asit Sayısı	Zeta potansiyeli, mV	Molekül Ağırlığı
P1	CSE	3	-1	337.4
P16	CSDESDESDES	15	-8	1620.4
P20	CCSDESDESDESSES	21	-10.1	2229.0

(a)

Nanoparçacık	Büyükölük, nm	Zeta potansiyeli, mV
Au NP	19.6	-31
Au NP- P1	20.1	-35
Au NP- P16	19.8	-36
Au NP- P20	20.8	-38

(b)

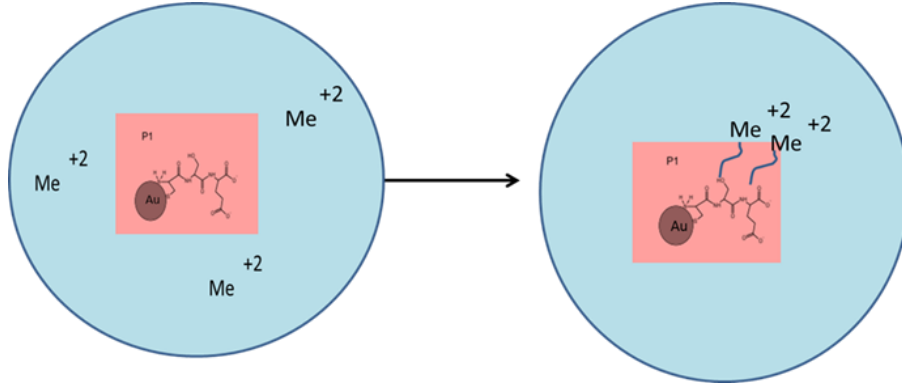


Şekil 4.3 : Bazı peptitlerle AuNP’ların işlevselleştirilmiş hallerinin temsilen gösterilmeleri.

P1, P16 ve P20 kodlu peptitler negatif yüklü peptitler olup sırasıyla 3, 15 ve 21 amino asitten oluşmaktadır. Amino asit sayısı arttıkça taşıdıkları yük sayısı da artmaktadır ve her amino asitinin R grubunda bir yük bulunması nedeniyle yük

artışıyla moleküler büyüklükte artmaktadır. P1 kodlu peptit kısa ve az sayıda yük (-1) içerirken P16 ve P20 kodlu peptitler daha uzun ve pH 7’de daha çok sayıda negatif yük (sırasıyla -8 ve -10) taşımaktadır. Negatif peptitlerle işlevselleştirilmiş AuNP’ların bulunduğu süspansiyonlar oldukça kararlı ve AuNP-peptit yapılar süspansiyon içerisinde çok iyi dağılmaktadırlar ve bu gözlem peptit büyüklüğünden ve taşıdığı yükten bağımsız gözükmektedir.

P1, P16 ve P20 kodlu peptitler negatif yüklü peptitler olduğundan pozitif yüklü metal iyonlarını (Cu^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , $\text{Cr}^{3+}/\text{Cr}^{6+}$ vs.) bağlama yeteneğine sahiptirler.



Şekil 4.4 : Peptit bağlı Au NP’ün sulu çözeltide metal bağlamasının şematik diyagramı.

5. DENEYSEL KISIM

5.1 Kullanılan Cihazlar

Tez çalışması için kullanılan cihazlar aşağıda sıralanmıştır.

Atomik absorpsiyon spektrofotometresi: Krom, kadmiyum, bakır, kurşun ve kobalt tayinleri için Varian AA 280Z Zeeman Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre (Varian Inc., Australia) ile gerçekleştirilmiştir. Deneylerde GTA 120 Grafit Tüp Atomlaştırıcı kullanarak atomlaşma gerçekleştirilmiştir. Numuneler PSD 120 otomatik örnekleyici ile pirolitik kaplı platforma damlatıldı. Spektral ışın kaynağı olarak krom, kadmiyum, bakır, kurşun ve kobalt oyuk katot lambaları kullanılmıştır. Deneylerde sürükleyici gaz olarak argon kullanılmıştır. Maksimum duyarlılık elde etmek için argon gazı akış hızı optimize edilmiştir.

Dalga boyu, slit aralığı, lamba akımı gibi aletsel parametreler Çizelge 5.1’de verilmiştir.

Çizelge 0.1 : Cr, Cd, Cu, Pb ve Co lambaların kullanılan akım değerleri, dalga boyu ve slit aralığı.

Element	Lamba akımı (mA)	Dalga boyu (nm)	Slit aralığı (nm)
Cr	10.0	357.9	0.7
Cd	10.0	228.8	0.5
Cu	10.0	324.8	0.5
Pb	10.0	283.3	0.5
Co	10.0	240.7	0.2

Çizelge 5.2 : Grafit fırın programı.

Adım No	Fırın Sıcaklığı (°C)	Süre (s)	İnert Gaz Akışı (L/dak)
1	85	5	0.3
2	95	40	0.3
3	Piroliz ^a	18	0.3
4	Atomlaşma ^b	4.8	0.0
5	2650	6	0.3
6	20	6	0.3

^a Cr, Cd, Pb, Cu ve Co için 1000°C, 250°C, 400°C, 800°C ve 750°C

^b Cr, Cd ve Pb için 2600°C, 1800°C ve 2100°C ; Cu ile Co için 2300°C

pH metre: Deneylerde kullanılan çözeltilerin pH ölçümlerinde WTW Series pH 340-A/SET2 marka pH metre kullanılmıştır.

Ultra saf su cihazı: Deneylerde kullanılan saf su TKA Smart2 Pure model saf su cihazından temin edilmiştir.

Santrifüj cihazı: Santrifüj işlemleri Hettich Rotina 380 R model cihazla gerçekleştirilmiştir.

Mikro pipet: Çözelti hazırlama ve aktarım işlemlerinde Eppendorf marka 20-200 µL, 10-100 µL ve 100-1000 µL arasında ayarlanabilen mikro pipetler kullanılmıştır.

5.2 Kullanılan Kimyasallar

Deneylerde kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıktadır. Krom, kadmiyum, bakır, kurşun ve kobalt tayini için kullanılan çözeltiler 1000mgL⁻¹ Cr, Cd, Cu, Pb ve Co stok çözeltilerinden (SCP Science) deiyonize su ile seyreltilerek günlük olarak uygun konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Çözeltilerin pH ayarlamaları 0,01 mol L⁻¹ NaOH ve 0,001 mol L⁻¹ HCl kullanılarak yapılmıştır.

5.3 Deneyin Yapılışı

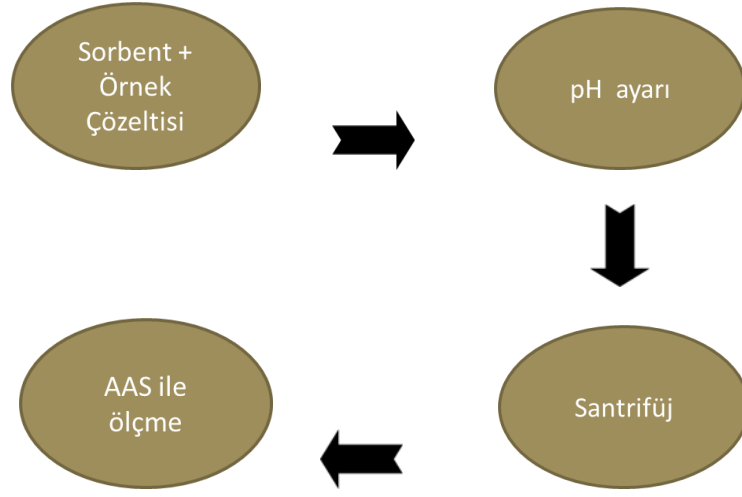
Çalışmada, üç ayrı sorbent (P1-AuNP, P16-AuNP ve P20-AuNP) üzerine Cr, Cd, Cu, Pb ve Co bağlanması araştırılmıştır. Bu amaçla pH, sorbent miktarı ve çözelti konsantrasyonu gibi parametrelerin sorpsiyon üzerine olan etkileri incelenmiştir.

pH'in sorpsiyon üzerine olan etkisinin incelenmesi deneyinde, her metal ve sorbent ikilisi için uygun olan pH değerin bulunması amacıyla sorpsiyon işlemi pH 4-10 aralığında yapılmıştır. Kullanılan 1 mg/L'lik stok çözeltilerinden 10 µL alınıp, 10 mL'lik balonjojede saf su ile seyreltilerek 1ppm'lik ara stok çözelti hazırlanmıştır. Ara stok çözeltiden 500 µL çekilip 50 mL'lik balonjojede saf su ile seyreltilerek 10 µg/L'lik standart çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra 10 mL'lik tüplerin içerisine 5 mL olarak sorbentler ve üzerine önceden hazırlanmış olan 10 µg/L'lik çözeltilerden 3'er mL konulmuştur. Çözeltilerin pH değerleri, oda sıcaklığında (T=20°C) 0,01M NaOH ve 0,01M HCl ile ayarlanmıştır. pH değerleri 4-10 arasında ayarlanan analit çözeltileri 10 mL'lik tüplerde 6.000 rpm'de 20 dakika santrifüjlenmiş ve üstteki çözeltilerde sorpsiyon sonucu geri kalan analit konsantrasyonları AAS'de okunmuştur.

Sorbent miktarının sorpsiyona etkisi deneyinde amaç, minimum sorbent miktarı ile maksimum verimin elde edilmesini sağlamaktır. Kullanılan 1 mg/mL'lik stok çözeltilerinden 10 µL alınıp, 1 mL'lik balonjojede saf su ile seyreltilerek ara stok çözelti hazırlanmıştır. Ara stok çözeltiden 500 µL çekilip 50 mL'lik balonjojede saf su ile seyreltilerek 10 µg/L'lik standart çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra 10 mL'lik tüplerin içerisine 1- 5 mL arasında değişen sorbentler ve üzerine önceden hazırlanmış olan 10 µg/L'lik çözeltilerden 3'er mL konulmuştur. Oda sıcaklığında çözeltilerin pH değerleri bir önceki adımda belirlenen optimum pH değerine 0,01M NaOH ve 0,01M HCl ile ayarlandıktan sonra tüpler 6.000 rpm'de 20 dakika santrifüjlendikten sonra çözeltideki metal iyonu konsantrasyonu AAS'de okunmuştur.

Analit konsantrasyonunun sorpsiyon üzerine etkisi incelenmesi deneyinde, hazırlanan stok çözeltilerden saf su ile seyreltmeler yapılarak her bir metal için 50-500 µg/L aralığında çözeltiler hazırlanmıştır. Her bir adsorbandan için hazırlanan bu farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerden 3 mL ilave edilerek oda sıcaklığında 0,01M NaOH ve 0,01M HCl ile optimum pH değeri elde edildikten sonra 6.000 rpm'de 20 dakika santrifüjlenerek üstteki çözeltilerin analit konsantrasyonları AAS'de okunmuştur.

Yöntem optimize edilmeye çalışıldıktan sonra gözlenebilirlik sınırı (LOD) ve tayin edilebilecek en düşük derişimler (LOQ) belirlenip, Marmara Denizi'nin farklı yerlerinden alınmış gerçek deniz suyu örneklerinin ve İstanbul musluk suyu örneklerinin ölçümleri alınmıştır.



Şekil 5.1 : Eser element analizi için genel prosedür.

6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

6.1 DeneySEL Şartların Sorpsiyon Üzerine Etkisi

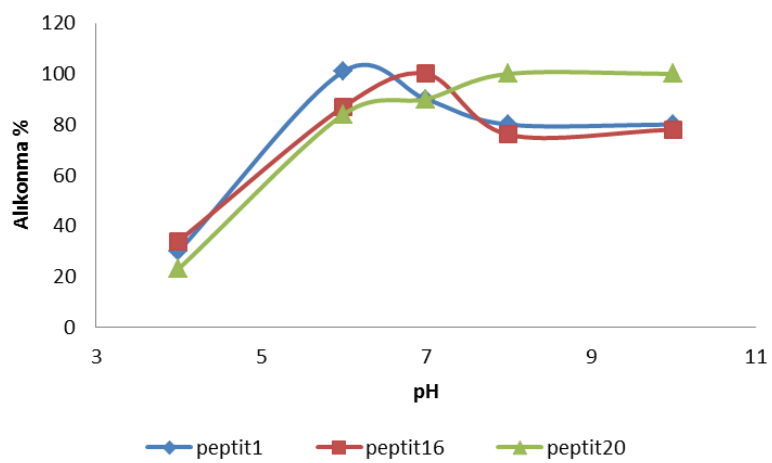
Bu çalışmada analitler (Cu, Cr, Cd, Pb, Co) farklı boyutlarda peptit kaplı Au NP'lar üzerine toplanarak GFAAS de doğrudan tayin edilmiştir. Yüksek verimde sorpsiyon sağlamak için çeşitli deneySEL parametreler incelenmiştir.

Analitlerin (Cu, Cr, Cd, Pb, Co) farklı boyutlarda peptit kaplı Au NP'ların üzerine tutunması model çözelti hazırlanarak incelenmiştir. Bu aşamada tutunma yüzdesi, analit elementlerini içeren ve sorbenti içeren çözelti ile karıştırılıp sorbent uzaklaştırıldıktan sonra sorbent üzerine tutunmayan analit elementlerinin tayin edilmesiyle dolaylı olarak gerçekleşmiştir.

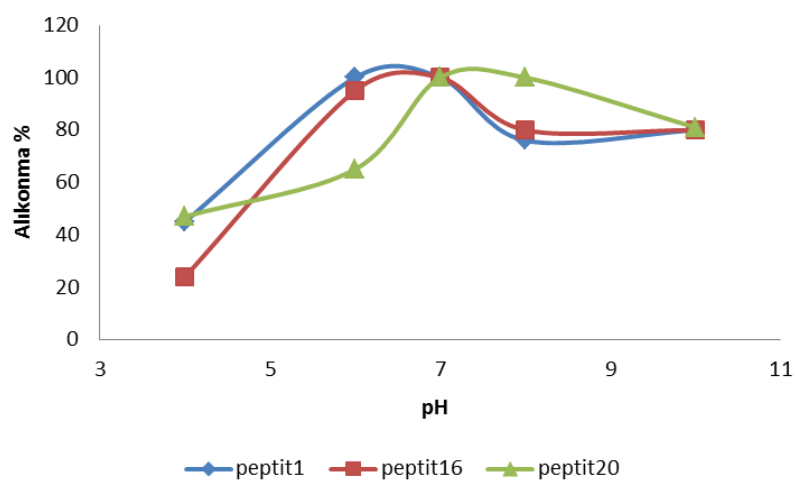
6.1.1 pH etkisi

Biyosorpsiyonun en önemli parametrelerinden biri adsorpsiyon prosesinin pH'a bağlı olmasından dolayı analit çözeltisinin pH'dır. Tutunma üzerine pH'ın etkisini incelemek amacıyla analit elementleri (10 ppb; Cr, Cd, Cu, Pb ve Co) içeren model çözeltisi içerisinde farklı boyutlarda peptit kaplı Au NP'larından oluşan biyosorbentler (5 mL) eklenmiştir. Çözeltilerinden 3'er mL ile 5'er mL P1, P16 ve P20 biyosorbentleri konulmuştur. Oda sıcaklığında pH'ları 4-10 arasında ayarlanmıştır ve çözeltiler santrifüjlenerek (6000 rpm 20 dakika) sorbente çöktürülerek uzaklaştırılmış ve üst fazda tutunmadan kalan kısımda analitlerin tutunmasına bakılmıştır. Çözeltinin pH'ı HCl ve NaOH ile ayarlanmıştır.

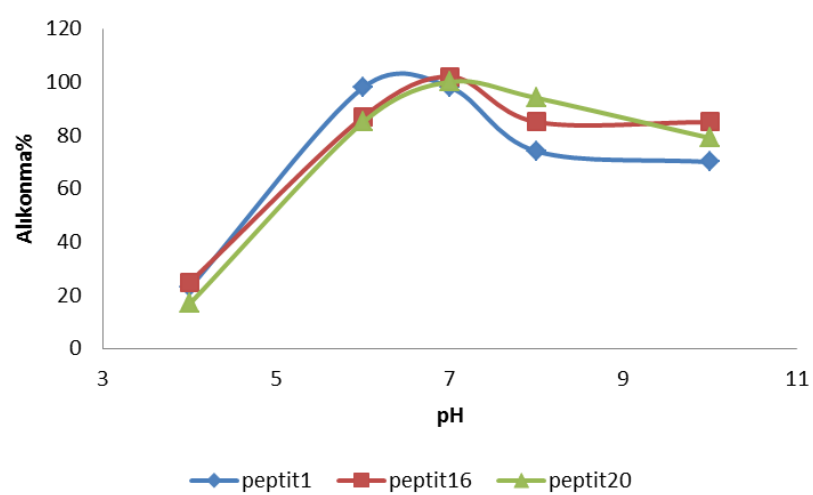
Analit elementlerinin kullanılan sorbentlerde tutunmasına pH etkisi Şekil 6.1'de gösterilmiştir. Her bir analit elementi için ve farklı boyutlardaki peptit bağlı Au NP dan oluşan sorbentlere tutunması pH>7 de kantitatif tutunma (>%95) elde edilmiştir.



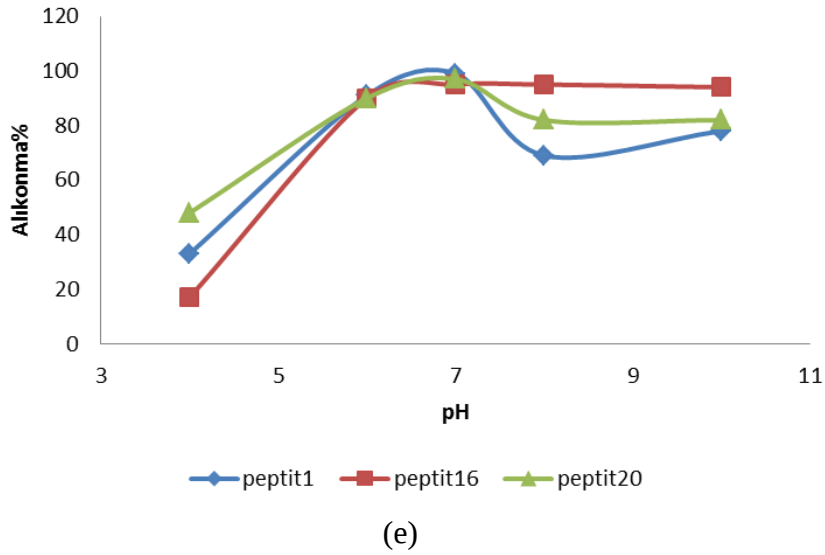
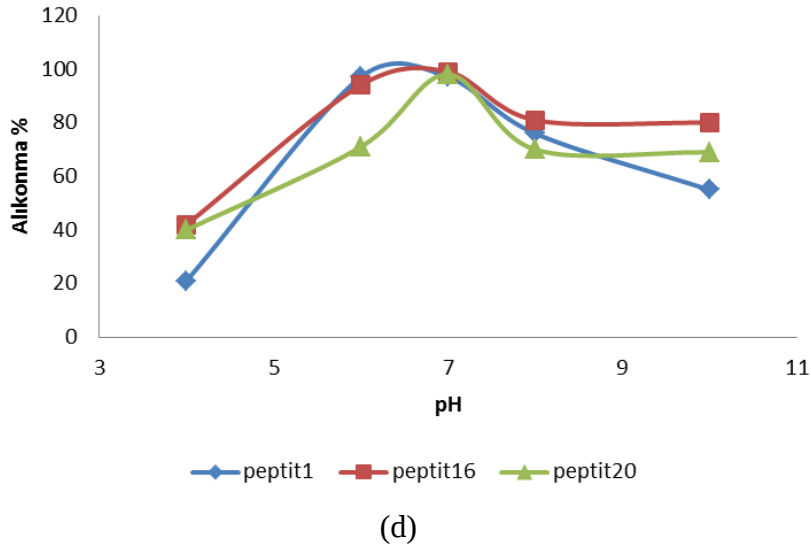
(a)



(b)



(c)



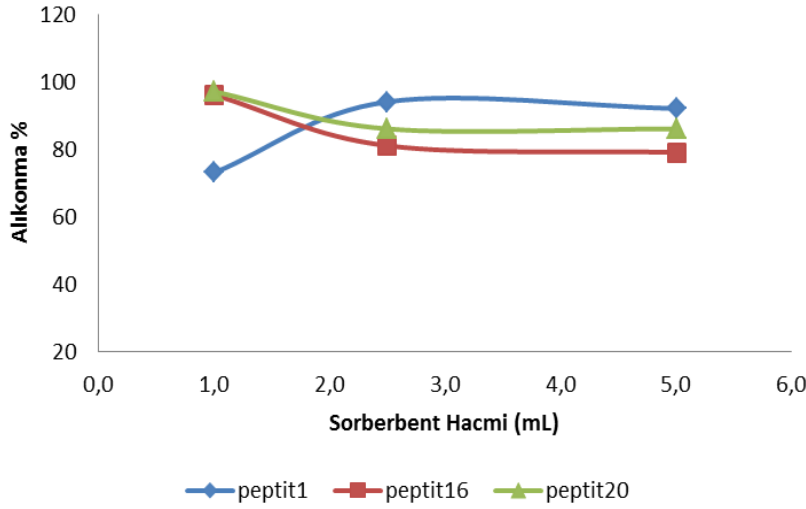
Şekil 6.1 : pH'nın (a) Cr, (b) Cd, (c) Cu, (d) Pb ve (e) Co tutunmasına etkisi (10 µg/L analit, örnek hacmi: 3 mL, sorbent hacmi 5 mL).

6.1.2 Sorbent miktarının etkisi

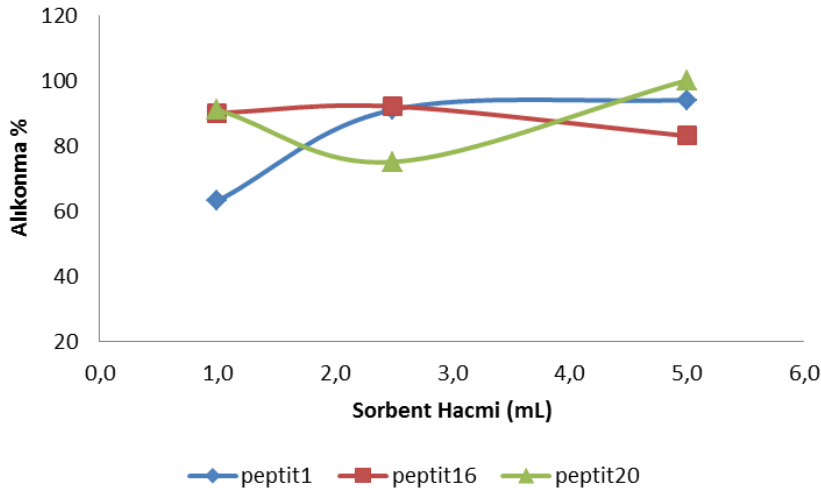
Adsorpsiyona etki eden diğer önemli parametrede kullanılan sorbentin miktarıdır. Sorbent miktarını optimize etmek için çeşitli miktarlardaki farklı boyutlarda peptit bağlı AuNP'lerinin analit elemanlarına adsorpsiyonu incelenmiştir.

Bu amaçla 1 mL ile 5 mL arasında farklı miktarlarda sorbentler üzerinde analitlerin tutunması incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 6.2'de gösterilmektedir. Analitlerin tutunduğu sorbent miktarının, alıkonma yüzdelere karşı olan grafikleri incelendiğinde, en uygun sorbent miktarının P1 ve P16 için 1 mL, P20 için 5 mL

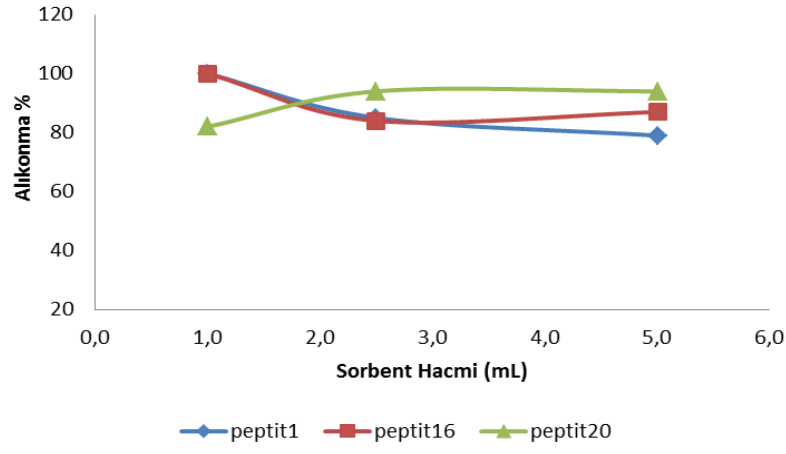
olduğu görülmektedir. Optimum miktardan az ve ya çok olduğunda yeterli tutunma yüzdesi elde edilememektedir. Bunun nedeni sorbent yüzeyinin az olması durumunda tutunmanın tam olarak gerçekleşmediği, fazla olduğunda ise peptit yüzeylerinin daha fazla oranda tutunma sağlayamadığıdır. Bundan sonraki çalışmalar P1 ve P16 sorbentleri için 1 mL biyosorbent varlığında pH 7’de, P20 sorbenti için 5 mL biyosorbent varlığında pH 7’de gerçekleşmiştir.



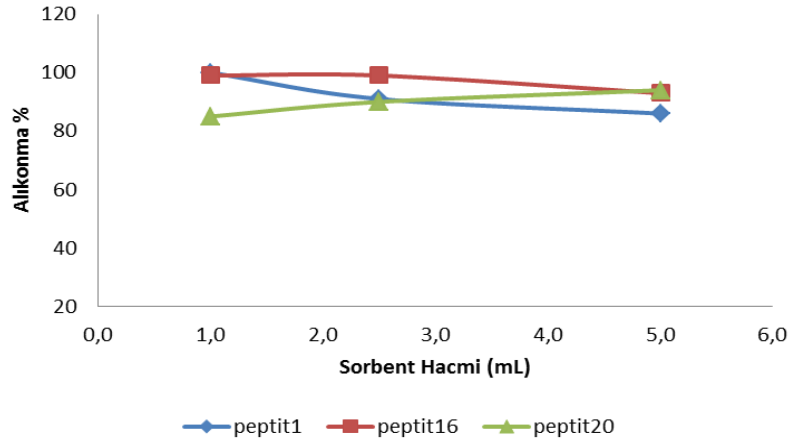
(a)



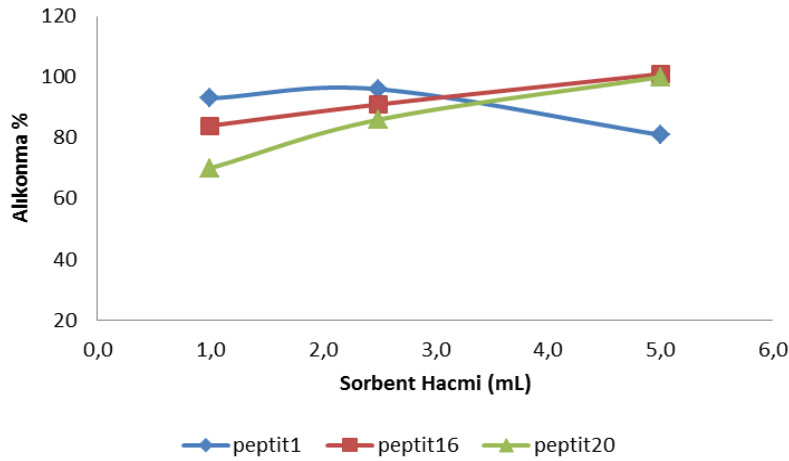
(b)



(c)



(d)



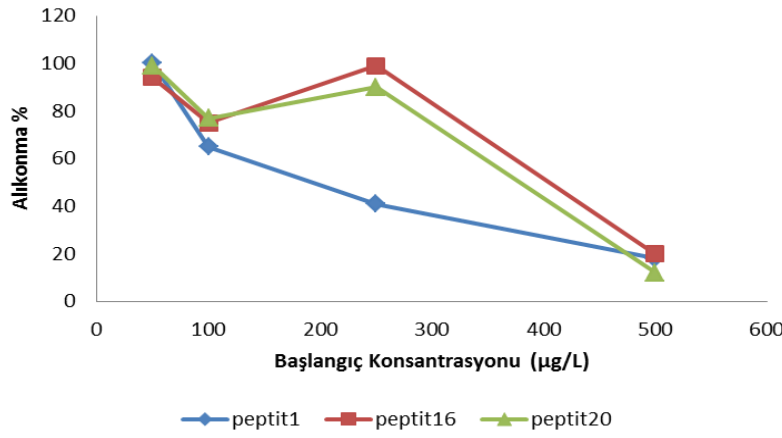
(e)

Şekil 6.2 : Sorbent miktarının (a) Cr, (b) Cd, (c) Cu, (d) Pb ve (e) Co analit elementleri üzerine etkisi.

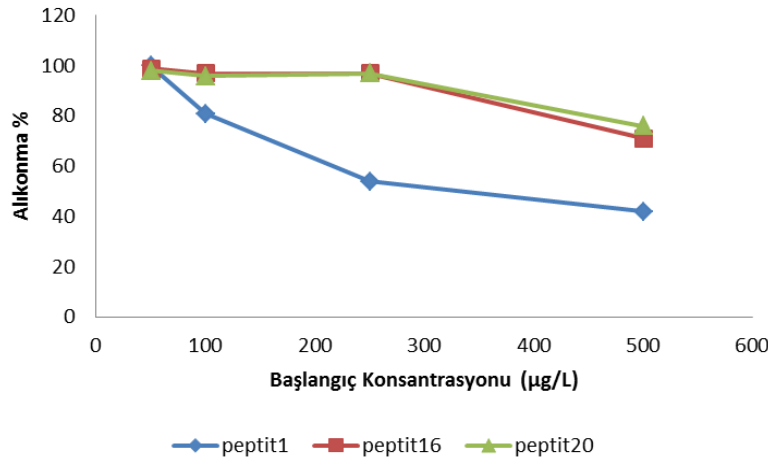
6.1.3 Metal konsantrasyonunun sorpsiyon üzerine olan etkisi

Sorbent üzerine tutunacak metallerin konsantrasyonunun (metal kapasitesi) belirlenmesi amacıyla farklı konsantrasyonlarda analit elementleri ile çalışılmış ve sorbentte tutunmaları tayin edilmiştir. Bu amaçla 50-500 µg/L konsantrasyondaki analit elementleri çalışılan sorbentler ile belirlenen optimum deneysel şartlarda muamele edilmiştir. Sonuçlar Şekil 6.3’de gösterilmektedir.

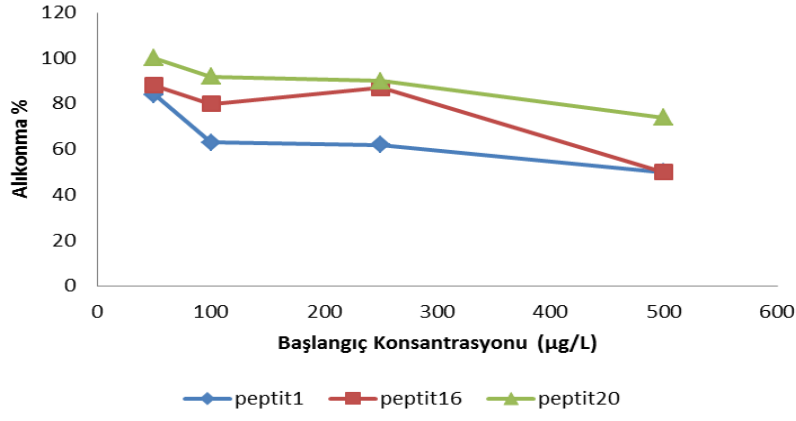
Her bir element için 50 µg/L kullanıldığında %100 tutunma sağlanmakla beraber, kullanılan sorbentin peptit uzunluğu arttıkça sorbent kapasitesinde arttığı gözlenmiştir.



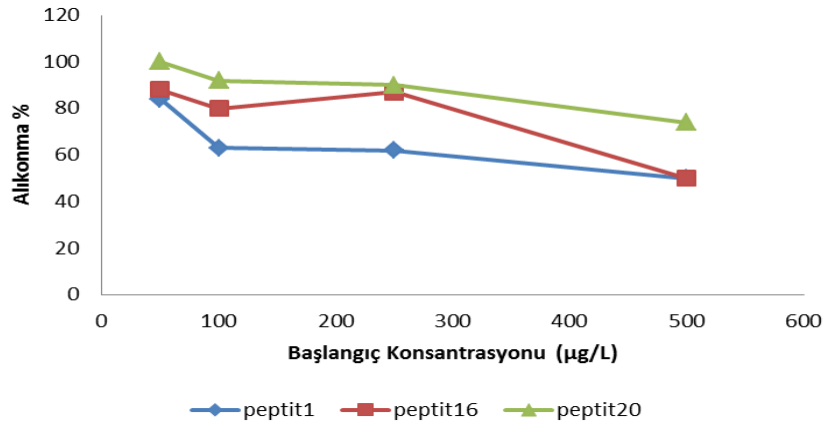
(a)



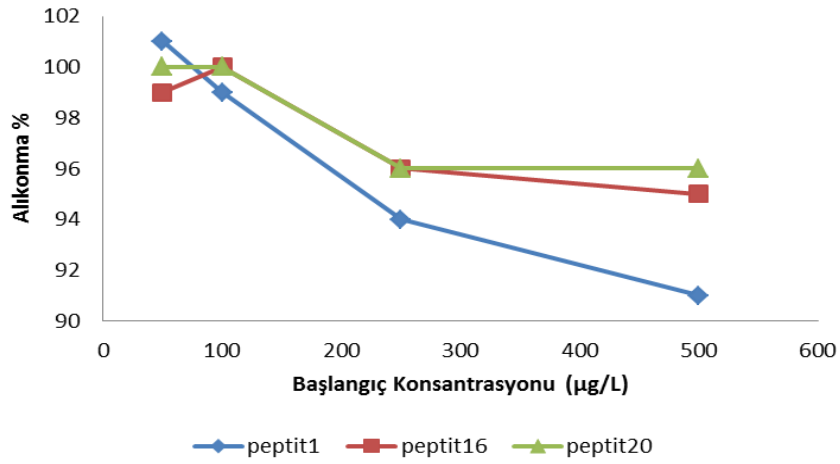
(b)



(c)



(d)



(e)

Şekil 6.3 : (a) Cr, (b) Cd, (c) Cu, (d) Pb ve (e) Co analit miktarının adsorpsiyon üzerine etkisi.

6.2 Metod Validasyonu

Optimize edilen metodun farklı matrislerde validasyonu deniz suyu ve çeşme suyu örneklerine standart ekleme metodu kullanılarak yapılmıştır. Optimize edilen şartlarda gerçek örnekler üzerine 10 µg/L eklemeler yapılarak metodun kullanılabilirliği ve doğruluğu test edilmiştir. Çalışılan yöntemde gerçek örnek üzerine eklenen miktarlar başarıyla tayin edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda sonuçlar % 95 güven aralığında bulunmaktadır.

Geliştirilen yöntemin tespit sınırın tayini için 10 paralel boş örneğe geliştirilen yöntem uygulandı. GFAAS ile tayin edilecek en düşük derişimler (LOQ) blank çözeltisinin standart sapmasının 10 katı, gözlenebilme sınırı ise (LOD) 3 katı olarak verilmiştir. Çizelge 6.1’de sonuçlar verilmektedir. Buna göre kullanılan sorbent ile düşük tespit sınırlarında tayin imkanı sağlanmakla birlikte, sorbent için kullanılan peptit boyu uzadıkça dedeksiyon limiti de düşmektedir.

Çizelge 6.1 : (a)P1, (b)P16 ve (c)P20 kodlu peptitler ile kaplanmış altın

nanoparçacıklar kullanarak deniz ve musluk suyu örneklerinde

Cu, Co, Cr, Cd, Pb geri kazanım yüzdeleri.

Matriks	Analit	P1@Au		
		Eklenen (µg/L)	Bulunan (µg/L)	Alıkonma (%)
Deniz Suyu	Cu	-	<LOD	-
		10	9.67	97
	Cr	-	6.6	-
		10	17.2	104
	Cd	-	2.7	-
		10	13.2	104
	Pb	-	23.3	-
		10	35.0	105
	Co	-	<LOD	-
		10	10.1	101
	Cu	-	8.7	-
		10	19.2	103
	Cr	-	2.8	-
		10	13.0	102

Musluk Suyu	Cd	-	<LOD	-
		10	9.5	95
	Pb	-	3.2	-
		10	13.0	98
	Co	-	<LOD	-
		10	10.3	103

(a)

Matriks	Analit	P16@Au		
		Eklenen (µg/L)	Bulunan (µg/L)	Alıkonma (%)
Deniz Suyu	Cu	-	<LOD	-
		10	10.9	109
	Cr	-	6.4	-
		10	15.8	96
	Cd	-	3.1	-
		10	13.0	99
	Pb	-	22.8	-
		10	32.6	99
	Co	-	<LOD	-
		10	9.6	96
Musluk Suyu	Cu	-	9.3	-
		10	19.9	103
	Cr	-	3.1	-
		10	12.9	98
	Cd	-	<LOD	-
		10	10.2	102
	Pb	-	3.3	-
		10	12.8	96
	Co	-	<LOD	-
		10	10.1	101

(b)

Matriks	Analit	P20@Au		
		Eklenen (µg/L)	Bulunan (µg/L)	Alıkonma (%)
	Cu	-	<LOD	-
		10	10.4	104
	Cr	-	6.9	-
		10	16.0	95

Deniz Suyu	Cd	-	3.0	-
		10	12.7	98
	Pb	-	23.7	-
		10	33.4	99
	Co	-	<LOD	-
		10	9.5	95
Musluk Suyu	Cu	-	9.2	-
		10	20.1	105
	Cr	-	3.3	-
		10	98	
	Cd	-	<LOD	-
		10	10.3	103
	Pb	-	3.4	-
		10	13.0	97
	Co	-	<LOD	-
		10	9.5	95

(c)

Geliştirilen metodun genel özellikleri Çizelge 6.2’de gösterilmektedir.

Çizelge 6.2 : (a)P1, (b)P16 ve (c)P20 harf koduna sahip peptitler ile kaplanmış altın nanoparçacıklar kullanılarak geliştirilen metodun özellikleri.

	P1@Au				
	Cu	Cr	Cd	Pb	Co
LOD, µg/L	6.53	8.1	8.4	7.5	4.1
LOQ, µg/L	21.5	26.7	27.7	24.7	13.5
Geri Kazanım	>95	>95	>95	>95	>95
Zenginleştirme Faktörü	20-100	20-100	20-100	20-100	20-100
Sorpsiyon pH	6-7	6	6-7	6-7	7

(a)

	P16@Au				
	Cu	Cr	Cd	Pb	Co
LOD, ppb	9.4	3.1	2.3	2.7	2.0
LOQ, ppb	31.0	10.2	7.6	8.9	6.6
Geri Kazanım	>95	>95	>95	>95	>95
Zenginleştirme Faktörü	20-100	20-100	20-100	20-100	20-100
Sorpsiyon pH	7	7	6-7	7	7

(b)

	P20@Au				
	Cu	Cr	Cd	Pb	Co
LOD, ppb	2.7	0.8	1.6	1.1	0.9
LOQ, ppb	8.9	2.6	5.3	3.6	2.9
Geri Kazanım	>95	>95	>95	>95	>95
Zenginleştirme Faktörü	20-100	20-100	20-100	20-100	20-100
Sorpsiyon pH	≥7	≥7	≥7	7	7

(c)

6.3 Tartışma

Kullanılan sorbent ve geliştirilen yöntem yukarıda belirtilen nedenlerden özgün olmakla beraber, kullanılan peptitin boyu arttıkça yükleme kapasitesi artmakta, dedeksiyon limitleri düşmektedir.

Sonuç olarak, ağır metal gideriminde nanopartiküllerin biyosorbent olarak kullanılması ile ucuz ve kolay bulunabilir bir alternatif biyosorbent geliştirilmiş olacaktır. P1, P16 ve P20 sorbentlerinin alternatif biyosorbent olarak kullanılması,

- Elde edilmesi için düşük maliyet gerektirmesi,
 - Cansız biyosorbent olduğu için, ağır metallerin toksik etkisinden olumsuz yönde etkilenmemesi,
 - Canlı biyosorbentler için önemli bir dezavantaj oluşturan kültür koşullarının optimize edilmesine ihtiyaç göstermemesi,
 - Canlı biyosorbentlere göre daha kısa sürede metalleri adsorblayabilmesi,
 - Adsorpsiyon kapasitesinin çok daha yüksek olması,
- avantajlarından dolayı uygun görülmüştür.

KAYNAKLAR

- [1] **Welz, B., Sperling, M.** 1999. Atomic Absorption Spectrometry, 3rd Completely Revised Edition, Wiley-VCH, Weinheim.
- [2] **Ege, A.** 2005. Denizsuyu ve Mineral Sulardaki Bazı Eser Elementlerin $Al(OH)_3$ İle Birlikte Çöktürülerek Ayrılması ve FAAS İle Tayini, Yüksek Lisans Tezi, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [3] **Deveci, T.** 2012. Gaziantep'te Atık Sulardan Etkilenen Toprak ve Bitkilerde Eser Element (Cu, Co, Mn ve Zn) ve Fe Konsantrasyonlarının ICP-MS İle Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kilis.
- [4] **Walsh, A.** 1955. Application of Atomic Absorption Spectra to Chemical Analysis, Spectrochim. Acta, 7, pp. 108-117.
- [5] **Welz, B.** 1985. Atomic Absorption Spectrometry, 2nd Ed., Federal Republic of Germany, Weinheim.
- [6] **Alkemade, C.T.J. ve Milatz, J.M.W.** 1955. Double Beam Method of Spectral Selection with Flames, Appl. Sci. Res. Sect. B, 4, pp. 288-289.
- [7] **Saatçi, A.D.** 2011. Eser Elementlerin Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi İle Tayininde Modifiye Edilmiş Nano Malzemelerle Ayrılması ve Zenginleştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, İ.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [8] **Skoog, D.A., Holler, F.J. ve Nieman, T.A.** 1998. Principles of Instrumental Analysis, Saunders College Publishing, Philadelphia.
- [9] **Akman, S.** 1980. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Grafit Fırında (HGA-74) Atomlaşma Mekanizmasının İncelenmesi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [10] **Lajunen, J.L.H.J.** 1992. Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission, The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- [11] **Gündüz, T.** 1990. Instrumental Analiz, Bilge Yayıncılık, Ankara.
- [12] **Baysal, A.** 2005. Slurry Tekniği İle Eser Elementlerin Zenginleştirilmesi ve Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi İle Tayini, Yüksek Lisans Tezi, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [13] **Yıldız, A., Genç, Ö. ve Bektaş, S.** 1997. Enstrümental Analiz Yöntemleri, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara.
- [14] **Harnly, J.M., Smith, C.M.M., Wiechems, D.N., Ivaldi, J.C., Lundberg, P.L. ve Radziuk, B.** 1997. Use of a Segmented Array Charge Coupled Device Detector for Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry with Graphite Furnace Atomization, J. Anal. At. Spectrom., 12, pp. 617-627.
- [15] **Harnly, J.M.** 1999. The Future of Atomic Absorption Spectrometry : A Continuum Source with a Charge Coupled Array Dedectorbances, J. Anal. At. Spectrom., 14, pp. 137-146.

- [16] **Schuetz, M.** 1997. Investigations Into the Effect of the Correction for Background Absorption in Continuum Source Atomic Absorption, Ph. D. Thesis, Technical University of Berlin, Germany.
- [17] **Braun, R.D.** 1987. Introduction to Instrumental Analysis, McGraw-Hill International Editions, Singapur.
- [18] **Jackson, W.K.** 1999. Electrothermal Atomization for Analytical Atomic Spectrometry, John Wiley&Sons, New York.
- [19] **L'vov, B. V.** 1984. The Investigation of Atomic Absorption Spectra Through Total Vaporization of the Sample in a Graphite Cuvette, Spectrochim. Acta Part B, **39**, pp. 149-157.
- [20] **L'vov, B. V.** 1961. Atomic Absorption Spectra by Complete Vaporization of a Substance in a Graphite Cells, Spectrochim. Acta Part B, **17**, pp. 761-770.
- [21] **Massman, H.** 1968. Comparison of Atomic Absorption and Atomic Fluorescence in Graphite Cuvettes, Spectrochim. Acta Part B, **23**, pp. 215-226.
- [22] **Woodriff, R., Ramelov, G.** 1968. Atomic Absorption Spectroscopy with a High Temperature Furnace, Spectrochim. Acta Part B, **23**, pp. 665-667.
- [23] **Slavin, W., Manning, D.C.** 1981. The Stabilized Temperature Platform, At. Spectrosc., **2**, pp. 137-145.
- [24] **Broekaert, J.A.C.** 2002. Analytical Atomic Spectrometry with Flames and Plasmas, Wiley-VCH, Weinheim.
- [25] **Cullen, M.** 2003. Atomic Spectroscopy in Elemental Analysis, CRC Pres, Boca Raton.
- [26] **İnce, M.** 2005. Ultra Eser Düzeydeki Ağır Metallerin Amberlite-XAD İle Önderiştirilmesi ve Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresiyle Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Fırat en Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- [27] **Skoog, D.A.** 1985. Principles of Instrumental Analysis, 3rd Ed., CBS College Publishing, New York. Sounders College Publishing, Philadelphia.
- [28] **Baysal, A.** 2011. İnsan Saçı Örneklerinde Eser Elementlerin Katı Örnekleme Atomik Absorpsiyon Yöntemi İle Tayini, Doktora Tezi, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [29] **Yavuz Ö., Altunkaynak Y. ve Güzel F.** 2003. Removal of Copper, Nickel, Cobalt and Manganese from Aqueous Solution by Kaolinite, Water Research, **37**, pp. 948-952.
- [30] **Kabasakal, E.** 2001. Herbisitlerden 2,4-Diklorofenoksiasetik Asit (2,4-D)' in Adsorpsiyonunun İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [31] **Sarıkaya, Y.** 1993. Fizikokimya, 1. Baskı, Gazi Büro Kitapevi, Ankara.
- [32] **Şenvar, C., Alpaut, O.** 1997. Kimyasal Kinetik ve Makromoleküller, Fizikokimya Cilt IV, Ankara.
- [33] **Aksu, Z.** 1998. Atıksulardaki Ağır Metal İyonlarının Yeşil Alglerden Chlorella Vulgaris'e Adsorpsiyonunun Kesikli Düzende Karıstırmalı ve Akışkan Yatak Tepkime Kaplarında İncelenmesi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [34] **Sag, Y.** 1993. Atıksulardaki Ağır Metal İyonlarının Giderilmesi ve Geri Kazanılması İçin En Uygun Biyosorbent Türünün Seçilmesi ve Değişik Reaktör Sistemlerinin Matematiksel İncelenmesi, Doktora

- Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [35] **Açıkel, Ü.** 1996. Endüstriyel Atıksulardaki Ağır Metal İyon Karışımlarının Yeşil Alglerden C. Vulgaris'e Adsorpsiyonun İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [36] **Sağ, Y., Kutsal, T.** 1989. Application of Adsorption Isotherms to Chromium Adsorption on Z. Ramiger, B iotechnology Letters, **11**, pp. 41-44.
- [37] **Ross, S. And Oliver, J.P.** 1964. On Physical Adsorption: John Wiley and Sons, USA, pp 9-11, 17-18 and 126-127.
- [38] **Hassler, J. W.** 1974. Purification with Activated Carbon: Chemical Publishsing Co., USA, pp 390.
- [39] **Yörükoğulları, E.** 2000. Doğal Zeolitlerde Fiziksel Adsorbsiyon Uygulamaları, Anadolu Üniversitesi Uygulamaları, Eskişehir.
- [40] **Lambert, S. D., Graham N. J. D., Sollars C. J. ve Fowler, C. D.** 1997. Evaluation of Inorganic Adsorbents for the Removal of Problematic Textile Dyes and Pesticides, Wat. Sci. Tech., **36(2-3)**, pp. 173-180.
- [41] **Wong, Y., Yu, J.** 1999. Laccase-Catalyzed Decolorization of Synthetic Dye, Wat. Res., Elsevier, **33(16)**, pp 3512-3520.
- [42] **Nakiboğlu, T.** 2005. Deri Endüstrisi Atıksularından Kromun Çeşitli Alglerle Biyosoprsiyonu, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Isparta.
- [43] **Volesky, B.** 1986. Biosorbent Materials, Biotechnoi. Bioeng Symp., **16**, pp. 121-126.
- [44] **Akın, A. B.** 2006. Farklı Yöntemlerle Hazırlanmış Aktif Çamur Biyosorbentleriye Reaktif Boyarmaddelerin Gideriminde Adsorpsiyon Hız ve Verimliliklerinin Karşılaştırılması, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- [45] **Pagnanelli, F., Toro, L. ve Veglio, F.** 2002. Olive Mill Solid Residues as Heavy Metal Sorbent Material: A Preliminary Study, Waste Management, **22**, pp. 901-907.
- [46] **Hammamini, A.** 2003. Simultaneous Uptake of Metals by Activated Sludge, Minerals Engineering, **16**, pp. 723-729.
- [47] **Norton, L.** 2003. Biosorption of Zinc from Aqueous Solutions Using Biosolids, Advances in Environmental Research.
- [48] **Keskinkan, O.** 2003. Heavy Metal Adsorption Characteristics of a Submerged Aquatic Plant (Myriophyllum spicatum). Process Biochemistry, pp. 1-5.
- [49] **İleri, R.** 2000. Çevre Biyoteknolojisi, Değişim Yayınları, Çevre Müh. Bölümü, Sakarya Üniversitesi, Adapazarı, pp. 651.
- [50] **Remacle, J.** 1990. The Cell Wall and Metal Binding, Biosorption of Heavy Metals, CRC Publishing House, Boca Raton, FL, pp. 83-92.
- [51] **Vieira, R. H. S. F., Volesky, B.** 2000. Biosorption: A Solution to Pollution Internatl. Microbiol, **3**, pp. 17-24.
- [52] **Crist, R.H., Oberholser, K., Mc Garrity, J., Crist, D.R., Johnson, J.K., ve Brittsan, J.M.** 1992. Interaction of Metals and Protons with Algae, Marine Algae, with Emphasis on Lead and Alumium., Environ. Sci. Technol., **26**, pp. 496-502.
- [53] **Greene, B., McPherson, R. ve Darnall, D.** 1987. Algal Sorbents for Selective Metal Ion Recovery, Metal Speciation, Separation and Recovery, Lewis, Chelsea, MI, USA, pp. 315-338.

- [54] **Brierley, J.A.** 1990. Production and Application of a Bacillus-Based Product for Use in Metals Biosorption, Biosorption of Heavy Metal, CRC Basımevi, Boca Raton, FL, pp. 305-312.
- [55] **Mann, H.** 1990. Biosorption of Heavy Metals by Bacterial Biomass, Biosorption of Heavy metals, CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 93-137.
- [56] **Hunt, S.** 1986. Diversity of Biopolymer Structure and Its Potential for Ion-Binding Applications, Immobilisation of Ions by Bio-Sorption, Ellis Horwood, Chichester, pp. 15-45.
- [57] **Macaskie, L.E., Dean, ACR.** 1990. Metal - Sequestering Biochemicals, Biosorption of Heavy Metals, CRC Publishing House, Boca Raton, FL, pp. 199-248.
- [58] **Doğan, N.** 2005. Ağır Metal Gideriminde Tarımsal Atık Kullanımı, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- [59] **Ucun, H.** 1970. Sarı Çam (Pinus Sylvestris) Kozalağı Biyoması Kullanarak Atıksulardaki Ağır Metallerin Biyosorpsiyonu, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- [60] **Özvardarlı, A.** 2006. Çevre Biyoteknolojisi Uygulamalarında Biyosorpsiyonun Yeri, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çorlu.
- [61] **Aksoy, S.** 2008. Farklı Boy Gruplarında Fitoplanktonik Organizmalar Kullanılarak Atıksulardan Cr^{+6} Biyosorpsiyonu, Yüksek Lisans Tezi, Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmit.
- [62] **Galun, M.** 1987. Removal of Metal Ions from Aqueous Solutions by Pencillium Biomass: Kinetic and Uptake Parameters, Water, Air and Soil Pollution, **33**, pp. 359-371.
- [63] **Aksu, Z.** 1992. The Biosorption of Copper (II) by C. Vulgaris and Zramigera, Environ Technol., **13**, pp. 579-586.
- [64] **Seki, H., Suzuki, A. ve Maruyama, H.** 2005. Biosorption of Chromium (VI) and Arsenic(V) onto Methylated Yeast Biomass, Journal of Colloid and Interface Science, **281**, pp. 261-266.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Gizem GEDİK

Doğum Yeri ve Tarihi: 14 Eylül 1988, İstanbul

E-Posta: gizem.gdk@gmail.com

Lisans: Trakya Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya
Bölümü (2006-2010)

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

- Gedik G., Baysal A. and Akman Süleyman., 2013: XVII. Euroanalysis/ Analytical Chemistry for Human Well-Being and Sustainable Development in Poland. *International Congress*, August 25-29, 2013 Warsaw, Poland.

