

Su Ürünleri Dergisi J.Fish.Aquat.Sci.	Cilt No.18/1 Vol.18/1	Özel Sayı Suppl.	219 - 224 219 - 224	İzmir – Bornova 2001 İzmir – Bornova 2001
--	--------------------------	---------------------	------------------------	--

## *Spirulina platensis*'in <sup>51</sup>Cr Sorpsiyon Kapasitesinin Saptanması

Memduh Sami Taner<sup>1</sup> Ceren Kütahyalı<sup>2</sup> Meltem Conk Dalay<sup>3</sup>  
Durmuş Özdemir<sup>4</sup> Kamil Köseoğlu<sup>1</sup> Yusuf Duman<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ege Üniversitesi, Medicine School, Nuclear Medicine Department, Bornova, İzmir, Türkiye.

<sup>2</sup> Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimleri Enstitüsü, Bornova, İzmir, Türkiye.

<sup>3</sup> Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova, İzmir, Türkiye.

<sup>4</sup> İzmir Teknoloji Enstitüsü, Kimya Bölümü, Gülbahçe – Urla, İzmir, Türkiye.

**Abstract :** *Determination of <sup>51</sup>Cr Sorption Capacity of Spirulina platensis.* Studies about bio-accumulation of Cr(III) on *S. platensis* have indicated that the process involves two steps: rapid adsorption and slow absorption. Chromium(III) compounds with weak chemical bonds have demonstrated higher bio-accumulation efficiency than those contains strong bonds. In addition, powder form of *S. platensis* could bioaccumulate more Cr(III) than fresh *S. Platensis* (1). The aim of this study was to determine sorption behaviour and capacity of Chromium to *Spirulina platensis* by using a radio-tracer technique. In this study, <sup>51</sup>Cr radionuclide has been selected to test total sorption (adsorption + absorption) capacity of *S. platensis* powder. Radionuclidic experimental data showed that it is possible to eliminate chromium pollution from industrial waste waters with powder *S. platensis* alga.

**Özet :** Krom (+3) kationunun (Cr(III)) *S. platensis* biyoakümülyasyonu üzerine yapılan çalışmalar bu prosesin hızlı adsorpsiyon ve yavaş absorpsiyon olarak iki adımda gerçekleştiğini göstermiştir. Kromun zayıf kimyasal bağlara sahip bileşikleri, kuvvetli olanlara göre *S. platensis* üzerine daha yüksek biyoakümülyasyon verimi ile sonuçlanan etki gösterdiği bilinmektedir. Buna ek olarak, kuru-toz formdaki *S. platensis*, taze-ıslak olan forma göre yapısına daha fazla Cr (III) akümüle edebilmektedir. Bu çalışmanın amacı radyo-izleyici teknik kullanarak Cr-51 radyonüklidinin *S. platensis* 'e sorpsiyon kapasitesini ve davranışını saptamaktır. Bu çalışmada kuru *S. platensis* tozunun toplam sorpsiyon (adsorpsiyon + absorpsiyon) davranışını test etmek için radyoaktif Cr-51 izotopu seçilmiştir. Radyonüklid kullanılarak yapılan deney sonuçları göstermiştir ki endüstriyel atık sularındaki krom kirliliğinin toz *S. platensis* ile giderilmesi mümkün olabilmektedir.

### Giriş

Günümüzde tıp alanında kullanılan krom-51 (<sup>51</sup>Cr) en çok RBC (Red Blood Cell);

nadiren WBC (White Blood Cell) ve Trombositler (Plateletes) gibi bazı kan hücrelerinin hayat süreleri ve miktarlarının saptanmasında kullanılan bir

radyoaktif çekirdektir.  $^{51}\text{Cr}$ , 27,7 günlük yarılanma ömrü ile radyoaktif bozunuma uğrayan ve %100 elektron yakalama (EC) ile mono enerjetik (320 keV) gama ışınları emite eden bir radyoaktif çekirdektir. Bu çekirdeğin bulunduğu ortamlardan alınan örneklerin, kuyu tipi sintilasyon dedektörleri yardımı ile radyoaktivitesi ölçülerek miktar tayini yapılabilir. İzleyici (tracer) olarak kullanılan bu radyonüklid ( $^{51}\text{Cr}$ ), genellikle sodyum kromat ( $\text{Na}_2\text{CrO}_4$ ) formundadır. Hücreler  $^{51}\text{Cr}$ 'i anyon şeklindeki kromat ( $^{51}\text{CrO}_4$ )<sup>2-</sup> formunda irreversible bir şekilde bünyelerine alırlar ve bilinmeyen bir mekanizma ile +6 değerlikten +3 değerli şekle çevirirler. Radyoaktif kromun indirgenmiş  $^{51}\text{Cr(III)}$  olarak hücreye penetrasyonu olası değildir, yada önemsenmeyecek düzeyde az orandadır. Zira katyonik haldeki  $\text{Cr(III)}$ 'ün su molekülleri ile oldukça hidratize bir şekilde bulunması sterik yapısının genişlemesine sebep olmakta ve hücre membranını geçmesi mümkün olamamaktadır (2). Bu çalışmada yukarıda verilen teoriden hareket ederek hücre boyutlarında bir canlı olan *S. platensis* mikro alginin ( $^{51}\text{CrO}_4$ )<sup>2-</sup>e olan ilgisini araştırmak amaçlanmıştır.  $^{51}\text{Cr}$  kromat ile yapılan deneylerden elde edilen tatmin edici sonuçlar, *S. platensis* 'in krom tutma kapasitesini de vermiştir. Bu çalışmalara paralel olarak, nötral bölgeye yakın olan değişik pH değerleri ve değişen konsantrasyonlarda inaktif kromat ile *S. platensis* , aynı fazda muamele edilmiş, *S. platensis*'e sorbe olmayarak çözeltide kalan Cr miktarı Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi (AAS) analiz yöntemi ile saptanmıştır. Ancak bu denemelerden elde edilen sonuçlar, radyoaktif krom ile yapılan deneylere göre daha az anlamlı olarak bulunmuştur.

Çalışmada kullanılan radyoaktif Cr-51 (Sodium Chromate Solution B.P.) Nycomed Amersham plc. UK, den; kristalize Sodyum kromat ve diğer kimyasallar Sigma ve Merck firmalarından satın alınmıştır, *S. platensis*, Ege Üniversitesi EBILTEM Spirulina pilot üretim tesisinden sağlanmıştır. BD marka test tüpleri ise Vacuntainer Systems (Belliver Ind., Estate, Plymouth, UK) den satın alınmıştır.

#### $^{51}\text{Cr}$ ile yapılan deneyler

$^{51}\text{Cr}$ 'in *S. platensis*'e afinitesini saptamak için yapılan deneylerde, 0.01 g ve 0.005 g kuru-toz formu kullanılmış ve 2 farklı metot uygulanmıştır (a ve b). Ayrıca non-radyoaktif kromatın ( $^{52}\text{Cr}$ ), *S. platensis*'e sorbsiyonu için 0.1 g kuru-toz örnekler kullanılmış ve analizler AAS ile yapılarak, her iki yöntemle de 1 g *S. platensis*'nin sorbe ettiği krom miktarı hesaplanmış ve sonuçlar karşılaştırılmıştır.

a- Bu metot tarafımızdan modifiye edilmiş bir İzotop Dilüsyon Metodudur (IDM). Buradaki düşünce şöyle açıklanabilir; başlangıç çözelti içeriği bilinen radyoaktif ve non-radyoaktif kromat karışımı *S. platensis* ile bir araya getirilirse, *S. platensis* , radyoaktif  $^{51}\text{Cr}$  ve inaktif  $^{52}\text{Cr}$ 'a karşı farklı davranmayacak; eşit şekilde onları sorbe edecektir (bağlanmanın adil kuralı). Standart aktivite ile karşılaştırıldığında çözelti fazında  $^{51}\text{Cr}$  den azalan miktar gama sayıcı vasıtası ile saptandığında, söz konusu azalma, inaktif Cr için de aynı şekilde geçerli olacağından *S. platensis* bünyesinde tutulan toplam Cr miktarı ve kapasite tayini yapılabilecektir.

#### Materyal ve Metot

*Spirulina platensis*'in  $^{51}\text{Cr}$  Sorpsiyon Kapasitesinin Saptanması

**Uygulama** 0.01 g *S. platensis* , lastik kapaklı özel test tüplerine (BD Vacutainer systems, Belliver Ind.Estate, Plymouth, UK.) alınmış ve üzerlerine 1ml, 25  $\mu\text{Ci}$   $^{51}\text{Cr}$  ve 20  $\mu\text{g}$  (20 ppm) inaktif Cr karışımı içeren çözelti konmuştur. +4 ml saf su ile bu karışım toplam 5 mL'ye seyreltilerek tüplerin ağzı kapatılmış ve 2 saat shaker da çalkalanmıştır. Aynı stok  $^{51}\text{Cr}$  çözeltisiden 0.5 ml alınarak 2.5 mL'ye

seyreltilmiş ve standart olarak kullanılmak üzere ayrılmıştır. Karıştırma süresi bittikten sonra tüpler 3500 rpm devirde santrifüj edilmiş, örnekler ve standardın üzerindeki sıvıdan 1 ml alınarak gama counter'da (Packard-Cobra Auto Gamma) 240-400 keV pencere aralığına denk gelen  $^{51}\text{Cr}$  kanalında sayımlar yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 1 de verilmiştir.

Tablo 1. Modifiye edilmiş izotop dilüsyon metodu ile yapılan deney sonuçları.

Tüp	<i>S. platensis</i> miktarı	$^{51}\text{Cr}$ counts (Radyoaktivite sayısı)	Sorpsiyon verimi %
1	0.01 g	39065	31.30
2	0.01 g	38952	31.21
3	0.01 g	40290	32.28
Std.		124785	
<b>1 g <i>S. platensis</i>' de tutulan Cr miktarı : 0.632 mg</b>			

b- İkinci metot da ise standardı ile beraber hazırlanmış sadece radyoaktif  $^{51}\text{CrO}_4$  çözeltileri kullanılmıştır. 3 ml hacim içinde sırasıyla 5, 10, 20  $\mu\text{Ci}$ 'lik  $^{51}\text{CrO}_4$  çözeltileri 0.005 g *S. platensis* içeren tüplere konmuş, oda temperaturünde, 2 saat karıştırma yapılan tüpler, 3500 rpm

devirde santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında, tüplerden ve standarttan 1 ml lik örnekler alınarak gama sayıcıda 240-400 keV pencere aralığında radyoaktif sayımları alınmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 2 de verilmiştir.

Tablo 2.  $^{51}\text{Cr}$  çözeltisi ve *S. platensis*'in direkt muamelesi ile (taşıyıcısız) yapılan deneylerden elde edilen sonuçlar.

Tüp	<i>S. platensis</i> miktarı	$^{51}\text{Cr}$ Aktivitesi ( $\mu\text{Ci}$ )	$^{51}\text{Cr}$ Counts (Radyoaktivite sayısı)	Sorbe edilen $^{51}\text{Cr}$ %
1	0.005 g	5	181724	96.49
2	0.005 g	10	377406	92.71
3	0.005 g	20	714897	86.19
Std.			5176550	

**Radyoaktif olmayan krom ( $^{52}\text{Cr}$ ) ile yapılan deneyler**

Bu aşamada radyoaktif krom ile inaktif kromun *S. platensis*'e sorpsiyon

performansları arasında bir korelasyon olup olmadığı test edilmek istenmiştir. Denemeler değişik pH ve konsantrasyonlardaki kromat çözeltileri ile yapılmıştır. Bu çözeltiler 0.1 g ve 1

g'lik toz haldeki *S. platensis* örneklerine uygulanmıştır. Bu amaçla yapılan deneylerde yükleme yapılacak Cr çözeltileri 25 ml hacimlerdeki çözeltilerle, 100 ml'lik erlenlerde bulunan *S. platensis* örnekleri üzerine verilmiş, 30°C deki su banyolu shaker da 2 saat çalkalanmış ve Whatman siyah/mavi bant filtre kağıdından süzölmüştür. Çözeltide kalan Cr miktarı UNICAM 929 Alevli sistem,

Atomik Absorbsiyon cihazında, 357 nm'de Cr ve Döteryum lambası kullanılarak total krom tayini yapılmıştır.

**Kapasite tayini:** 1 g *S. platensis* , 1000 ppm'lik 25 ml, pH=7.0 olan Na<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> çözeltisi ile 24 saat muamele edilmiştir. Elde edilen karışımlar Whatman mavi bant filtre kağıdı ile süzölmüş, alta geçen çözeltiler AAS ile analiz edilmiştir.

Tablo. 3. 1 g *S. platensis* tarafından tutulan Cr miktarı

<i>S. platensis</i> Miktarı	<i>S. platensis</i> üzerine Sorbe Edilen Cr (VI) (Deney Ortalaması)
1 g	0.04 mmol /g (2.08mg/g- <i>S. platensis</i> )

Daha sonra pH parametresi incelenmiştir. Bu amaçla 100 ppm'lik 25 ml Na<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> çözeltisi hazırlanmış, gereken pH ayarlamaları (Hanna Instruments pH meter) pH-metre ve 0.1 M NaOH ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kullanılarak sırasıyla 6.0, 7.0, ve

8.0 e set edildikten sonra 0.1 g *S. platensis* ile muamele edilmiştir. Bu pH'larda *S. platensis* tarafından sorplanan krom miktarları ve sorpsiyon yüzdeleri Tablo 4. te görölmektedir.

Tablo. 4. 0.1 g *S. platensis* tarafından tutulan Cr miktarının pH ile değişimi

pH	Sorbe edilen Cr (µg)	Çözeltide kalan Cr (µg)	% Sorpsiyon	K <sub>D</sub>
6.0	357.39	2142.61	14.29	41.70
7.0	268.75	2231.25	10.75	30.11
8.0	357.25	2142.75	14.29	41.68

<sup>51</sup>Cr çözeltileri ve birçok Cr'lu atık çözeltilerde rastlanan genel pH; 6, 7 ve 8 arasında değişmekte olduğundan, deneyler bu pH aralıklarında yapılmıştır. Tablo 4 den göröldüğü üzere sorpsiyon yüzdesi üzerine bu aralıktaki pH değişiminin önemli bir etkisi olmadığı gözlenmiştir.

Bu aşamadan sonra konsantrasyon parametresi incelenmiştir. 50-500 ppm

aralığındaki konsantrasyonlarda Cr içeren standart çözeltiler kullanılarak nötral pH bölgesinde Cr sorpsiyonuna, konsantrasyon etkisi incelenmiştir. 0.1 g *S. platensis* örnekleri, değişen konsantrasyonlardaki 25 mL'ik krom çözeltileri ile 30 °C de 2 saat süre ile çalkalanmıştır. Bu konsantrasyonlarda *S. platensis* tarafından sorplanan krom miktarları ve sorpsiyon yüzdeleri Tablo 5. te görölmektedir.

## *Spirulina platensis*'in <sup>51</sup>Cr Sorpsiyon Kapasitesinin Saptanması

Tablo. 5. Değişik krom konsantrasyonlarına 0.1 g *S. platensis* 'in sopsiyon yanıtı

Cr Konsantrasyonu (ppm)	Sorbe Edilen Cr (µg)	Çözeltide kalan Cr (µg)	% Sorpsiyon	K <sub>D</sub>
50	55.12	1194.85	4.41	11.53
100	391.57	2108.43	15.66	46.42
250	2928.55	3321.45	46.85	220.42
500	2683.87	9816.13	21.47	68.35

Tablo 5 den de görüldüğü üzere tutulan toplam Cr miktarına göre optimum konsantrasyon 250 ppm dir.

### Tartışma

Radyoaktif <sup>51</sup>Cr ile yapılan denemeler, 1 g *S. platensis*'in 0.632 mg Cr sorbe ettiği (Tablo 1) Tablo 3. te non radyoaktif ölçüm metodu ile bulunan değer 2.08 mg dir. İki farklı metod ile bulunan değerler arasında 3.29 kat fark vardır. Radyoaktif izleyici teknikler ile yapılan analizlerin daha hassas olduğu bilinmektedir ancak radyasyonun randomize bir olay olduğu ve radyoaktif izleyici ile yapılan sorpsiyon deneylerinde kullanılan sodyum kromatın içerdiği tüm krom atomlarının radyoaktif olmadığı dikkate alındığında bulunan 3.29 kat değer kabul edilebilir bir fark olduğu söylenebilir. AAS denemeleri sonucunda elde edilen 2.08 mg Cr/g-*S. platensis* değeri bazı endüstriyel atıklardaki Cr konsantrasyonlarına eşdeğerdir. Olası yüksek atıklarda ise bu oranda tutma kapasitesi olan bir materyalin atıklardan Cr u azaltıcı etki yapacak düzeyde olduğu söylenebilir. Bu denemeler limitli sürelerde elde edilen sonuçları göstermektedir. Daha uzun süreli etkileşimlerin incelenmesi, *S. platensis*'in Cr sorpsiyonunu daha yüksek bir seviyeye

çıkartabileceğini düşünmekteyiz, bunun yanında canlı bir materyal olan *S. platensis*'in üreme yeteneği de göz önüne alındığında Cr içeren sıvı atıklarda daha başarılı pratik uygulamalar söz konusu olabilecektir.

Radyoaktif maddeler çok seyreltik çözeltiler halinde üretilmektedirler. Örneğin bir kliniğin bir aylık ihtiyacını karşılayabilecek <sup>51</sup>Cr kromat, stok olarak satın alındığında 3.1–31 µgr/ml ve 3.7-37 MBq (01-1 mCi) aktivite konsantrasyonundadır. Dolayısı ile oluşacak atıklar çok seyreltikdir. Toz *S. platensis*'in yüksek <sup>51</sup>Cr tutma özelliği dikkate alındığında, Nükleer tıp kliniklerinde oluşan seyreltik <sup>51</sup>Cr atıklarının tuzaklayıcısı olarak kullanmak caziptir. Bunun yanında deri sanayi atık sularından çevreye kaçabilen Cr içerikli atıklar, buldukları ortamda olabildiğince seyrelmektedir. Bu atıkların bekletildiği havuzlarda *S. platensis* üremesine izin vermek, *S. platensis*'in Cr'u sorbe etmesini; ayrıca Cr gibi ağır metal kirliliğine sebep olan diğer (Cu, Zn, Pb ) bir çok metal iyonunu da (3) atık havuzlarında fikse edilerek, kontrollü bir şekilde yok edilmesini mümkün kılacaktır.

*M.S. Taner, C. Kütahyalı, M. Conk Dalay, D. Özdemir, K. Köseoğlu, Y. Duman*

### **Teşekkür**

E.Ü. Fen Fakültesi Analitik Kimya kürsüsü öğretim üyesi Sayın Prof Dr Emür HENDEN ve araştırma ekibine AAS analizlerimizin yapılması konusunda

gösterdikleri ilgi ve yardımlar dolayısı ile teşekkür ederiz. Ayrıca deneysel çalışmalar süresince harcadıkları emek ve dikkat dolayısı ile öğrencilerimiz Esin SALMAN, Engin SARI, Nalan BİLGİN and Esra ERSOY a çok teşekkür ederiz.

### **Kaynakça**

Li-ZY; Li-YG; Guo-SY; Li-L; Zhang-SL, Sheng-Wu-Kung-Cheng-Hsueh-Pao., Study of the factors of Cr(III) bioaccumulation on *Spirulina platensis*, Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao 2000 Jan; 16(1): 108-12

Tartaroğlu AN, Hematolojide Radyoaktif İzotoplar, E.Ü. Tıp Fak. Yayınları No:50;1966

Nelson-Yarrow-M; Thampy-Ramesh-J; Motelin-Gideon-K; Raini-Jackson-A; Disante-Cynthia-J; Lion-Leonard-W., Model for trace metal exposure in filter-feeding flamingos at Alkaline Rift Valley Lake, Kenya., Environmental-Toxicology-and-Chemistry. Nov., 1998; 17 (11) 2302-2309.