

## ADSORPTION OF Fe<sup>2+</sup> IONS WITH *Saccharomyces cerevisiae* IMMOBILIZED PUMICE STONE

Mustafa LALE\*, Nazan ŞAHİN, Zülfikar TEMOÇİN

\*Türkiye Odalar ve Borsalar Birliği, Atatürk Bulvarı, No:149, 06640, Bakanlıklar-Ankara  
Kırıkkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 71450 Kırıkkale, Türkiye

### ABSTRACT

In this study, the adsorption conditions of Fe<sup>2+</sup> ions on *Saccharomyces cerevisiae* immobilized pumice stone were investigated by column method. In order to perform this aim, the effect of solution pH value, initial concentration of ions and suitable solution and concentration for recovery of adsorbed ions were investigated. At pH 5, the maximum adsorption was obtained. At optimal pH value, adsorption capacity of sorbent for metal was obtained as 1,81 mg.g<sup>-1</sup>, when initial concentration was 60 mg.ml<sup>-1</sup>. Influence of HCl, NaCl, NH<sub>4</sub>Cl and EDTA solutions on desorption were investigated and maximum recovery was achieved by 0,2M EDTA solution. Desorption were 98% level provided by 0,2 M EDTA solution.

**Key Words:** Adsorption, *Saccharomyces cerevisiae*, Pumice stone, Immobilization

## Fe<sup>2+</sup> İYONLARININ *Saccharomyces cerevisiae* İMMOBİLİZE EDİLMİŞ PONZA TAŞI İLE ADSORPSİYONU

### ÖZET

Bu çalışmada kolon yöntemi kullanılarak Fe<sup>2+</sup> iyonlarının *Saccharomyces cerevisiae* immobilize edilmiş ponza taşına adsorpsiyon şartları araştırıldı. Bu amaçla; adsorpsiyona çözelti pH sınırı, iyon başlangıç derişiminin ve adsorplanan iyonların geri kazanılması için uygun çözelti türü ve derişiminin etkisi araştırıldı. Maksimum adsorpsiyonun sağlandığı pH değerinin 5 olduğu belirlendi. Optimum pH değerinde, adsorbanın metal tutma kapasitesi 60 µg/mL başlangıç derişiminde 1,81mg/g dır. Desorpsiyona HCl, NaCl, NH<sub>4</sub>Cl ve EDTA çözeltilerinin etkisi araştırıldı. En uygun çözeltinin 0,2 M'lık EDTA çözeltisi olduğu gözlemlendi. 0,2 M EDTA çözeltisi ile %98 oranında desorpsiyon sağlandı.

**Anahtar Kelimeler:** Adsorpsiyon, *Saccharomyces cerevisiae*, Ponza taşı, İmmobilizasyon

### 1. GİRİŞ

Metal iyonlarının sulu çözeltilerden mikroorganizmalar ile tutulmasına biyosorpsiyon denir. Ağır metalleri atık sularından uzaklaştırmak, eser metalleri matriksten ayırmak ve zenginleştirmek için alg, mantar, maya, bakteri gibi mikroorganizmalar son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır(1). Hem ölü hem de canlı mikroorganizmalar metalleri tutma özelliğine sahiptir. Çözeltideki metal iyonları, hücre duvarlarındaki biyopolimerlerde bulunan kimyasal, fonksiyonel gruplarla tutulurlar. Yüzeydeki bu bağlanmalar amin, amid, imidazol, hidroksil, karboksil, fosfat, tiyoeter ve diğer fonksiyonel gruplarla gerçekleşir. Metabolizmadan bağımsız biyosorpsiyon genellikle hızlı ve pH'ya bağlı olup, 4-30 °C arasında sıcaklıktan bağımsızdır (1-4). Düşük derişimlerde birçok ağır metal mikrobiyal büyüme ve metabolizma için gereklidir. Fakat yüksek derişimler canlı hücrelerin bazılarında toksik etki gösterir. Ölü biyokütle kullanıldığında toksiklik problemi görülmez.

### 1. INTRODUCTION

Metal accumulation from aqueous solutions by microorganisms is called biosorption. In recent years, removal of heavy metal ions from waste water and preconcentration of trace metals by microorganisms such as algae, fungi, yeast and bacteria has been widely used (1). Either living or nonliving cells are capable of accumulating heavy metal ions. The metal ions in solution are adsorbed through interactions with chemical functional groups such as carboxylate, amine, amide, imidazole, phosphate, thioether, hydroxyl and other functional groups found in the cell wall biopolymers. Metabolism-independent biosorption is generally rapid and affected by pH, however unaffected over a modest temperature range (4-30 °C) (1-4). Some trace elements in the organism have many vital functions. The toxic effects may appear at various levels of the elements. When dead cells are used, microorganism is not affected from toxic wastes. Metal

Ayrıca ölü biyokütlerdeki biyosorpsiyon hızı canlı hücreye göre oldukça hızlıdır (5).

Mikroorganizmalar serbest halde kullanıldıkları gibi immobilize edilerek de kullanılmaktadırlar. İmmobilizasyonda silika jel(6), sepiolit(7), gözenekli cam(8), poliüretan köpük(9), ve aljinat mikroküreler(10) gibi destek maddeleri kullanılmaktadır. İmmobilize mikroorganizmaların, serbest mikroorganizmalara göre kullanım süresi, mekanik dayanıklılık ve çözelti ortamından kolay ayrılması gibi üstünlükleri vardır (6-8,11-13).

Madrid ve arkadaşları, *Saccharomyces cerevisiae* kullanarak metilciva ve civa (II) iyonlarının türleme çalışmasını yapmışlardır. Çalışmalarında bu iki iyonun adsorpsiyonuna pH'nın, sıcaklığın, inkübasyon zamanının, civa derişiminin, maya miktarının ve ortamda bulunan diğer iyonların etkisini incelemişlerdir. Metilcivanın, civa(II) iyonundan daha toksik olduğunu belirtmişlerdir (14).

Suh ve arkadaşları, canlı ve ölü *Saccharomyces cerevisiae* ya  $Pb^{2+}$  iyonlarının tutunmasını incelemişlerdir. Canlı hücrelerin, ölü hücrelere göre  $Pb^{2+}$  tutma kapasitelerinin daha yüksek olduğunu ve iyon tutunmasının ise ölü hücrelerde daha hızlı gerçekleştiğini belirtmişlerdir (15).

Bassari ve arkadaşları ponza taşı kullanarak Sr, Cs, ve Th iyonlarının sulu çözülden ayrılmasını incelemişlerdir. İyonların çözülden uzaklaştırılmasında çözelti pH sını etkili olduğunu ve Th iyonlarının tutunma miktarının daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir (16).

Bu çalışma, öğütölmüş ponza taşına ölü mikroorganizma immobilize edilerek hazırlanan adsorban ile yürütöldü. Hazırlanan adsorbanın  $Fe^{2+}$  iyonlarını adsorpsiyon şartları ve adsorplanan metalin geri kazanılması için uygun elue edici çözelti türü araştırıldı.

## 2. MATERYAL ve METOT

### 2.1. Cihaz ve Malzemeler

Analizlerde Pharmacia Biotech marka Ultrospec 2000 model uv-visible spektrofotometresi kullanılmıştır. Analizler 1cm ışık yollu hücreler kullanılarak yapılmıştır.Çözelti pH'sı NEL marka 890 model dijital pH metre ile ayarlanmıştır.

Deneylerde, üst kısmında yaklaşık 500 mL hacimli hücresi bulunan 20 cm boyunda, 1 cm çapındaki cam bütetler kolon olarak kullanıldı. Bu çalışmada, Demir(II) amonyum sülfat (Merck), Hidroklorik asit (Merck), Hidroksilamin hidroklorür (Merck), Sodyum asetat (Merck), 1,10 Fenantrolin (Merck), Amonyak (Merck), Amonyum klorür (Merck), Sodyum klorür (Merck), EDTA (Merck), reaktifler kullanıldı. Çözültelerin hazırlanmasında deiyonize su kullanıldı. Hazırlanan 1000 µg/mL derişimindeki stok demir(II) çözeltisinden, diğer demir (II) çözülteleri seyreltme yolu ile hazırlandı.

Destek maddesi olarak kullanılan ponza taşı,  $SiO_2$  (%60-75),  $Al_2O_3$  (%13-15),  $Fe_2O_3$  (%1-4),  $Na_2O$  (%2-5),  $K_2O$  (%3-4),  $CaO$ (%1-2),  $MgO$ (%1-2) kimyasal bileşimine sahiptir (17). Küçük kalıplar halindeki ponza

uptake by dead cells is quite rapid (5).

Free and immobilized microorganisms could both be used as biosorbents. The biomass has been immobilized on a support material using such as silica gel (6), sepiolite (7), pore glass (8), polyurethane foam (9) and alginate microbeads (10). Immobilized cell systems possess several advantages on freely suspended cells, including, better capability of re-using the biomass, excellent durability and easy separation of cells from the solution (6-8, 11-13).

Madrid et al. used *Saccharomyces cerevisiae* for speciation of methyl mercury and Hg(II). They investigated several parameters affecting the degree of adsorption such as solution pH, temperature, incubation time, amount of biomass and the presence of foreign ions. They have reported that methyl mercury is more toxic than Hg(II) (14).

Suh et al. have employed live and dead *Saccharomyces cerevisiae* for biosorption of  $Pb^{2+}$  ions. It has been reported that adsorption capacity of living cell is higher than dead cell however the rate of metal uptake of dead cell is more rapid than living cell (15).

Bassari et al. have utilized pumice stone for removal of Sr, Cs, and Th ions from aqueous solution. They have reported that pH of solution affects uptake of metal ions and amount of adsorbed Th ions is higher than the other ions (16).

In this study, dead cell was immobilized on granulated pumice stone. The adsorption conditions of  $Fe^{2+}$  ions on to immobilized cell were investigated. Moreover the effect of type and concentration of elution solutions for desorption of adsorbed ions were also investigated.

## 2. MATERIALS and METHODS

### 2.1. Apparatus and Reagents

Pharmacia Biotech Ultrospec 2000 model uv-visible spectrophotometer was used for the determination of  $Fe^{2+}$  ions. All pH measurements were performed with NEL 890 model digital pH meter.

All chemicals were used of analytical reagent grade. Deionized water was used throughout the work. The stock solution of  $Fe^{2+}$  ions (1000 µg.ml<sup>-1</sup>) was prepared by dissolving appropriate amounts of  $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$  compound. The working solutions were prepared by dilution from stock solution.

As a solid support for the growth of cells, pumice stone composition are;  $SiO_2$  (%60-75),  $Al_2O_3$  (%13-15),  $Fe_2O_3$  (%1-4),  $Na_2O$  (%2-5),  $K_2O$  (%3-4),  $CaO$ (%1-2),  $MgO$ (%1-2) (17). It was ground and sieved to 300µm - 600µm.

taşı havanda dövüldü. Elekten geçirilerek 300µm - 600µm çapındakiler kullanılmak üzere ayrıldı.

## 2.2. *Saccharomyces cerevisiae*'nin Hazırlanması

### 2.2.1. Katı ortam

Litresinde 3 g malt özütü (Merck), 3 g maya özütü (Merck), 10 g glikoz (Merck), 5 g pepton (Lab M), 15 g agar (Lab M) içeren sulu çözeltiler hazırlanıp otoklavda 120 °C 'de 30 dakika sterilize edildikten sonra petri kaplarına döküldü ve katılaşmaya bırakılarak *Saccharomyces cerevisiae*'nin aşılacağı katı ortam hazırlandı. Hazırlanan katı ortama sterilize platin tel ile *Saccharomyces cerevisiae* aşılansak 30°C'lik bir ortamda büyümeye bırakıldı. Katı ortamda büyüyen *Saccharomyces cerevisiae*'nin başka mikroorganizmalar tarafından kontamine olmaması, katı ortamda büyümesinin durdurulması ve uzun süre bozulmadan kalabilmesi amacıyla +4 °C'de muhafaza edildi.

### 2.2.2. Sıvı ortam

Sıvı besi ortamını hazırlamak için 0,6 g malt özütü, 0,6 g maya özütü, 2g glikoz ve 1g pepton damıtık deiyonize suda çözülerek hacim aynı su ile 200 mL'ye tamamlandı ve otoklavda 120 °C'de 30 dakika sterilize edildi.

### 2.2.3. Başlangıç kültürü

Başlangıç kültürünü oluşturmak için sıvı ortam hazırlandı. Daha sonra katı besi ortamında büyüyen *Saccharomyces cerevisiae* steril platin tel ile sıvı besi ortama aşılandı ve çalkalamalı karıştırıcıda 30 °C'de 24 saat büyümeye bırakıldı.

### 2.2.4. Deney kültürü

Deney kültürünü hazırlamak amacıyla aynı sıvı besi ortamdan 200 mL'lik bir seri sıvı besi ortamı hazırlandı. Sterilize edildikten sonra başlangıç kültüründen her bir sıvı besi ortamına ayrı ayrı 10 mL aşılama yapıldı ve çalkalamalı karıştırıcıda 30 °C'de 24 saat büyümeye bırakıldı.

### 2.2.5. Ölü biyokütlenin hazırlanması

Deney kültürü ortamında büyümesi tamamlanan *Saccharomyces cerevisiae* 0,45 µm nitroselüloz filtre kağıdı ile süzülerek sıvıdan ayrıldı ve damıtık deiyonize su ile yıkandı. 0,1 M HCl çözeltisi ile karıştırılarak mikroorganizmaların ölmesi sağlandı. 10 dakika bekletildikten sonra tekrar 0,45 µm nitroselüloz filtre kağıdı ile süzüldü. Damıtık deiyonize su ile birkaç kez yıkayıp süzülükten sonra kurutuldu.

### 2.2.6. *Saccharomyces cerevisiae*'nin immobilizasyonu

2 g öğütülmüş (300µm - 600µm çapında) ponza taşı ile hazırlanan 150 mg ölü ve kuru *Saccharomyces cerevisiae* karıştırıldı. Karışım 2 mL damıtık deiyonize su ile tekrar karıştırıldı ve 105 °C'de 20 dakika süre ile kurutuldu. Bu işlem birkaç kez tekrarlanarak suyu tamamen giderildi (18).

## 2.3. Adsorpsiyon Kolonunun Hazırlanması

Kolonlar temizlenip kurutulduktan sonra en alt kısmına bir parça (yaklaşık 1cm yüksekliğinde) cam pamuğu

## 2.2. Preparation of *Saccharomyces cerevisiae*

### 2.2.1. Solid medium

A laboratory strain of *Saccharomyces cerevisiae* was maintained on a medium comprising (g.l<sup>-1</sup>) malt extract (Merck) 3, yeast extract (Merck) 3, glucose (Merck) 10, peptone (Lab M) 5 and agar (Lab M) 15. The yeast cultivated on the solid medium was stored in a refrigerator at +4 °C in prior to use, in order to extend their freshness and prevent contamination by the growth of other microorganisms.

### 2.2.2. Liquid medium

The composition of the liquid medium was as follows: 0,6 g malt extract, 0,6 g yeast extract, 2g glucose and 1g peptone were dissolved in deionized water. The medium was diluted total volume of 200 ml with deionized water prior to sterilization at 120 °C for 30 min.

### 2.2.3. Starter Culture

The starter culture was performed from the solid medium by loop-inoculating to 200 ml of liquid medium. Then, it was incubated for 24 h. at 30 °C on orbital shaker.

### 2.2.4. Experimental culture

For experimental culture, 200 ml of liquid medium was prepared and inoculated with 10 ml of the starter culture. It was incubated for 24 h. at 30 °C on orbital shaker.

### 2.2.5. Preparation of dead biomass

The yeast grown in the experimental culture was separated from the growth media using 0,45 µm nitrocellulose filter paper to isolate the biomass. The biomass was washed with deionized water then 0,1 mol.l<sup>-1</sup> HCl was added to the isolated biomass. After 10 min, the mixture was filtered. The biomass was washed three times with deionized water and filtered before dried.

### 2.2.6. Immobilization of *Saccharomyces cerevisiae*

150 mg of dry biomass was mixed with 2 g of pumice stone. The mixture was wetted with 2 ml of deionized water and thoroughly mixed. It was dried for 20 min at 105 °C. The wetting and drying step was repeated (18).

## 2.3. Preparation of Adsorption Column

0,5 g pumice stone immobilized *Saccharomyces cerevisiae* was filled into a glass column plugged with a small portion of glass wool (about 1 cm height). Before use, 0,1 mol.l<sup>-1</sup> HCl solution and deionized water were passed through the column in order to clean it. Then the column was conditioned to the studied pH.

## 2.4. Method of Determination

Fe(II) ions were determined by the resulting coloured complex reacted between Fe<sup>2+</sup> ions and 1,10 phenantroline (19). All measurements were performed 508 nm of wavelengths.

yerleştirildi. Cam pamuğunun üzerine mikroorganizma immobilize edilmiş ponza taşından 0,5 g yerleştirildi. Kolondan önce 0,1M HCl çözeltisi geçirildi. Daha sonra kolon birkaç kez damıtık deiyonize su ile yıkandı. 0,1 M NH<sub>3</sub> ve 0,1 M HCl çözeltileri ile, pH sı çalışılan değerlere ayarlanmış sulu çözeltiler kullanılarak şartlandırıldı.

#### 2.4. Spektrofotometre ile Tayin Yöntemi

UV-visible spektrofotometresi ile yapılan tayinlerde Fe<sup>2+</sup> iyonlarının 1,10 Fenantrolin ile verdiği renkli kompleksten faydalanılmıştır (19). Standart çözeltilerin ve tanık çözeltilerin absorpsanları 508 nm dalga boyunda okundu, elde edilen değerlerden faydalanılarak kalibrasyon grafiği çizildi.

### 3. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA

#### 3.1. pH'nın Adsorpsiyona Etkisi

*Saccharomyces cerevisiae* immobilize edilmiş ponza taşında maksimum adsorpsiyonun sağlandığı pH değerini bulmak amacıyla Fe<sup>2+</sup> iyonu için derişimleri 10 µg/mL olan 50mL hacminde pH'lar 2-8 aralığında olacak şekilde bir seri çözelti hazırlandı. Bu çözeltiler dolgu maddesi olarak mikroorganizma immobilize edilmiş ponza taşı kullanılan kolondan akış hızı 2mL/dakika olacak şekilde geçirildi. Numunelerdeki Fe<sup>2+</sup> iyonu uv-visible spektrofotometresi ile analiz edildi. *Saccharomyces cerevisiae* immobilize edilmiş ponza taşına Fe<sup>2+</sup> iyonlarının adsorpsiyonunun pH ile değişimi Şekil 1 de verilmiştir. Şekilden adsorplanan Fe<sup>2+</sup> miktarının ortamın pH'sına bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Bu da metabolizmadan bağımsız olarak gerçekleşen biyosorpsiyonun pH'nın bir fonksiyonu olduğunu göstermektedir (1). Düşük pH değerlerinde metal iyonlarının bağlandığı uçlar protonlar tarafından doldurulmaktadır (20). Ortamın pH'sı arttıkça metal iyonlarının adsorpsiyonu da artmaktadır. Bu değer pH = 5'te maksimuma ulaşmaktadır.

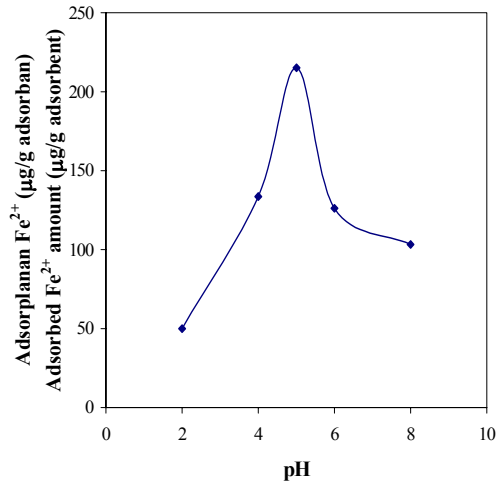
Metaller hücre duvarındaki biyopolimerlerde bulunan fonksiyonel gruplara protonlarla yer değiştirerek bağlanırlar. Ortam bazikleştiğinde ise metal adsorpsiyonu azalmaktadır. Bazık ortamda Fe<sup>2+</sup> nin iyonik ve iyonik olmayan hidroksit kompleksleri oluşması adsorpsiyonun azalmasına neden olmaktadır (21).

### 3. RESULTS and DISCUSSIONS

#### 3.1. Effect of pH

The adsorption of Fe<sup>2+</sup> ions *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on pumice stone was studied as a function of pH. For that purpose, the pH values of Fe<sup>2+</sup> solutions (10 µg.ml<sup>-1</sup> concentration and 50 ml volume) were adjusted to arrange of 2-8 with 0,1mol.l<sup>-1</sup> HCl and 0,1mol.l<sup>-1</sup> NaOH. These solutions were passed through the column with 2 ml.min<sup>-1</sup> flow rate. Adsorption of Fe<sup>2+</sup> ions changed with pH of solutions as shown in Figure 1. These results were showed that function of pH occurred metabolism independent biosorption (1). The decrease in binding at lower pH values was attributed to the protonation of weakly basic coordination groups on the yeast surface (20). Maximum adsorption of Fe<sup>2+</sup> ions was obtained at pH=5.

The metal ions in solution are adsorbed on the surface through interactions with chemical functional groups found in the cell wall biopolymers. The lower uptake was probably due to formation of non ionic and ionic hydroxide complexes at higher pH values (21).



**Figure 1.** Effect of pH on the adsorption ( $[Fe^{2+}] = 10 \mu g \cdot ml^{-1}$ , Flow rate = 2 ml·min<sup>-1</sup>, V = 50 ml)

**Şekil 1.** pH'nın Adsorpsiyona Etkisi ( $[Fe^{2+}] = 10 \mu g/ml$ , Akış hızı = 2 ml/dakika, V = 50 mL)

### 3.2. Başlangıç Derişiminin Adsorpsiyona Etkisi

*Saccharomyces cerevisiae* immobilize edilmiş ponza taşında, Fe<sup>2+</sup> iyonunun adsorpsiyonuna başlangıç derişiminin etkisini araştırmak amacıyla optimum pH'da derişimleri 10, 20, 40, 60, 80, 100 µg/mL olan 50 mL hacmindeki Fe<sup>2+</sup> çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltiler dolgu maddesi olarak mikroorganizma immobilize edilmiş ponza taşı kullanılmış olan kolondan akış hızı 2 mL/dakika olacak şekilde geçirildi. Numunelerdeki Fe<sup>2+</sup> iyonu UV-visible spektrofotometresi ile tayin edildi. *Saccharomyces cerevisiae* immobilize edilmiş ponza taşına Fe<sup>2+</sup> iyonlarının adsorpsiyonuna başlangıç derişiminin etkisi Şekil 2'de gösterilmiştir. Başlangıç derişiminin artmasına bağlı olarak Fe<sup>2+</sup> iyonu adsorpsiyonu belirli bir değere kadar artmaktadır. Fe<sup>2+</sup> iyonlarının adsorpsiyonunun 60 µg/mL başlangıç değerine kadar arttığı, bu değerden sonra sabit kaldığı görülmektedir. Bu başlangıç derişiminde adsorplanan maksimum Fe<sup>2+</sup> miktarı 1,81 mg/g adsorbent olarak bulunmuştur. Burada adsorbentın doygunluğa ulaştığı görülmektedir.

Şekil 3'te görüldüğü gibi Fe<sup>2+</sup> iyonlarının *Saccharomyces cerevisiae* immobilize edilmiş ponza taşına adsorpsiyonu Freundlich izotermine uymaktadır. İzoterm eşitliği şu şekilde ifade edilir

$$\log q = \log k + \frac{1}{n} \log C \quad [1]$$

Eşitlikte, q; Birim biyokütle tarafından adsorplanan metal miktarı, C; Çözeltideki metal derişimi, k; Freundlich adsorpsiyon sabiti, n; Freundlich izoterm sabitini temsil eder.

### 3.2. Effect of initial concentration

The effect of initial metal concentration on the adsorption of Fe<sup>2+</sup> from solutions containing 10-100 µg·ml<sup>-1</sup> metal ions were examined at optimum pH. These solutions were passed through the column with 2 ml·min<sup>-1</sup> flow rate. As shown in Figure 2, the adsorbed metal amount was increased until the initial concentration of 60 µg·ml<sup>-1</sup>. Above this concentration, the adsorbed metal amount was not significantly changed. The capacity of adsorption was found as 1,81 mg·g<sup>-1</sup> adsorbent. The adsorbent was saturated at this value.

As shown in Figure 3, adsorption of Fe<sup>2+</sup> on *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on pumice stone was Freundlich type. The Freundlich isotherm equation is as following.

In equation, q; Adsorbed metal amount of 1 g adsorbent, C; Concentration of metal in solution, k; Freundlich adsorption constant, n; Freundlich isotherm constant

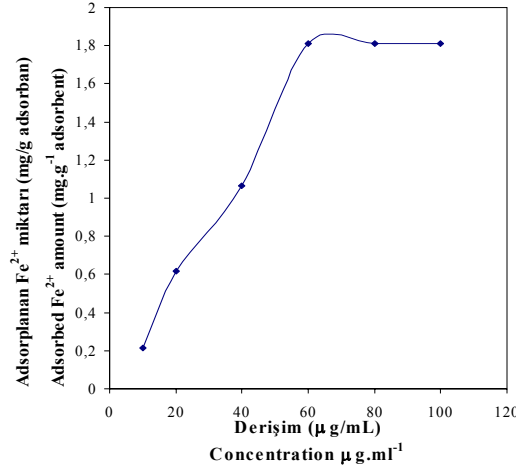


Figure 2. Effect of initial concentration (pH=5, Flow rate=2ml.min<sup>-1</sup>, V=50mL)

Şekil 2. Başlangıç Derişiminin Adsorpsiyona Etkisi (pH=5, Akış hızı=2mL/dakika, V=50mL)

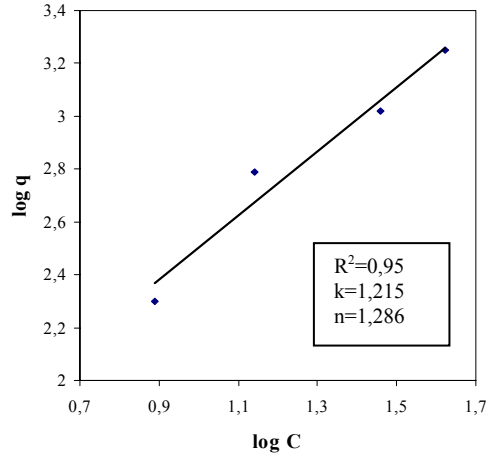


Figure 3. Freundlich Isotherm

Şekil 3. Freundlich İzotermi

Mikroorganizmaların adsorpsiyon kapasiteleri mikroorganizmanın türüne, metal türüne, mikroorganizmanın canlı veya ölü oluşuna, serbest veya immobilize edilmiş olmasına ve kullanılan destek maddesine bağlı olarak değişir(6,18,22).

### 3.3. Desorpsiyon Yöntemi

Literatürde geri kazanma işlemlerinin genellikle HCl, HNO<sub>3</sub>, ve çeşitli tuz çözeltileri ile yapıldığı bilinmektedir(23-26). Adsorplanan Fe<sup>2+</sup> iyonlarının geri kazanılması çalışmaları HCl çözeltisi, tuz çözeltileri ve EDTA çözeltisi ile yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 1'de verilmiştir. Yapılan deneylerde 0,2 M'lık EDTA çözeltisi ile gerçekleştirilen desorpsiyonun %98 verim ile gerçekleştiği görülmüştür.

The adsorption capacity of microorganisms has dependent on the species of microorganism, species of metal ions, dead or living of microorganism, free or immobilized microorganism and the immobilization support material (6,18,22).

### 3.3. Method of Desorption

HCl, HNO<sub>3</sub> and salt solutions were used for desorption in previous studies (23-26). For the desorption of Fe<sup>2+</sup> from *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on pumice stone, HCl, NaCl, NH<sub>4</sub>Cl and EDTA solutions were tested. The results were shown in Table 1. High desorption occurred with 0,2 mol.l<sup>-1</sup> of EDTA solution.

**Table 1.** Effect of Solution Types on Desorption  
**Çizelge 1.** Desorpsiyona Elue Edici Çözelti Türü ve Derişiminin Etkisi

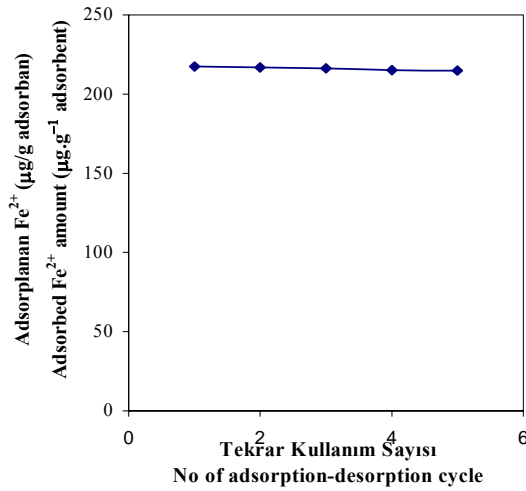
Solution type Desorpsiyon çözeltisinin türü	Concentration (mol.l <sup>-1</sup> ) Derişim (mol/L)	Desorption, % %Desorpsiyon
NH <sub>4</sub> Cl	1	10
NaCl	1	13
HCl	0,1	38
EDTA	0,1	75
EDTA	0,2	98

### 3.4. Tekrar Kullanılabilirlik

Kolonda yapılan adsorpsiyon çalışmalarında kullanılan adsorbanın defalarca tekrar tekrar kullanılabilmesi ekonomiklik ve pratiklik açısından oldukça önemlidir. Bu amaçla *Saccharomyces cerevisiae* immobilize edilmiş ponza taşının adsorban olarak yeniden kullanılmasının Fe<sup>2+</sup> iyonu adsorpsiyonuna etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla beş kez adsorpsiyon ve desorpsiyon işlemi tekrarlanmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4’de verilmiştir. Beş adsorpsiyon ve desorpsiyon işlemi sonucunda adsorplanan metal miktarlarının birbirlerine oldukça yakın olduğu görülmüştür. Buda bize adsorbanın tekrar kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

### 3.4. Effect of Adsorption-Desorption Cycles

It is important to know that how many times the adsorbent can be used. To investigate stability and potential recyclability of the adsorbent for five adsorption-desorption cycles were carried out. As shown in Figure 4, approximately decrease was not observed on the metal adsorption by the five cycles. Adsorbent was found to be high potential of reusability.



**Figure 4.** Effect of adsorption-desorption cycles [Fe<sup>2+</sup>]=10µg.ml<sup>-1</sup>, pH=5, V=50ml

**Şekil 4.** Tekrar Kullanım sayısı [Fe<sup>2+</sup>]=10µg/mL, pH=5, V=50mL

### 4.SONUÇ

Elde edilen veriler, adsorbanın Fe<sup>2+</sup> iyonlarının sulu çözeltilerden uzaklaştırılmasında kullanılabileceğini göstermektedir.

### 4. CONCLUSION

This study showed that *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on pumice stone is useable for removal of Fe<sup>2+</sup> ions from aqueous solutions.

### KAYNAKLAR/ REFERENCES

- Madrid, Y. and Camara, C., "Biological Substrates for Metal and Preconcentration and Speciation", *Trends in Anal. Chem.*, 16, 36-44 (1997).
- Drake L.R., and Rayson G.D., "Plant-Derived Materials for Metal Ion-Selective Binding and Preconcentration". *Anal. Chem.*, 1, 22-27 (1996).
- Aksu, Z. and Kutsal, T., "Bioseparation Process for Removing Lead(II) Ions from Waste Water by Using *C. vulgaris*", *J. Chem. Tech. Biotech.*, 52, 109-118 (1991).

4. Tsezos M., Baird H.I. and Shemilt, L.W., "The Kinetics of Radium Biosorption", *The Chem. Eng. J.*, 33, B35-B41 (1986).
5. Crist, R.H., Oberhaser, K. Shank, N., Nguyen, M., "Nature of Binding between Metallic Ions and Algal Cell Walls", *Environ. Sci. Tech.*, 15, 1212-1217 (1981).
6. Mahan, C.A. and Holcombe, J.A., "Immobilization of Algae Cells on Silica Gel and Their Characterization for Trace Metal Preconcentration", *Anal. Chem.*, 64, 1933-1940 (1992).
7. Bağ, H., Türker, A.R. and Lale, M., "Determination of Cu, Zn, Fe, Ni and Cd by Flame Atomic Absorption Spectrophotometry after Preconcentration by *Escherichia coli* Immobilized on Sepiolite", *Talanta*, 51, 1035-1043 (2000)
8. Maquieria, A., Elmahadi, H.A.M. and Puchades, R., "Use of *Saccharomyces cerevisiae* in Flow Injection Atomic Absorption Spectrometry for Trace Metal Preconcentration", *Anal. Chem.*, 66, 1462-1467 (1994).
9. Gerin, P.A., Asther, M. and Rouxhet, P.G., "Peroxidase Production by the Filamentous Fungus *Phanerochaete chrysosporium* in Relation to Immobilization in "Filtering" Carriers", *Enzyme and Microbial Tech.*, 20, 294-300 (1997)
10. Garnham, G.W., Codd, G.A. and Gadd, G.M., "Accumulation of Cobalt, Zinc and Manganese by the Estuarine Green Microalga *Chlorella salina* Immobilized in Alginate Microbeads", *Environ. Sci. Tech.*, 26 (9), 1764-1770 (1992)
11. Elmahadi, H.A.M. Greenway, G.M., "Immobilization of Algae as a Reagent for Preconcentration in Trace Element Atomic Absorption Spectrometry", *J. Anal. At. Spect.*, 6, 643-651 (1991).
12. Maquieria, A., Elmahadi, H.A.M. and Puchades, R., "Technique and Support for Microorganism Immobilization Application to Trace Metals Enrichment by Flow Injection Atomic Absorption Spectrometry", *Analyt.*, 121, 1633-1640 (1996).
13. Mahan, C.A. and Holcombe, J.A., "Preconcentration of Trace Metals Using Silica-Immobilized Algae Cells in a Chromatographic Separation Procedure", *Spectrochimica Acta*, 47B, 1483-1490 (1992).
14. Madrid, Y., Cabrera, C., Corona, T. P., and Camara, C., "Speciation of Methyl Mercury and Hg(II) Using *Saccharomyces cerevisiae*, Determination by Continuous Flow Mercury Cold Vapor Generation Atomic Absorption Spectrometry", *Anal. Chem.*, 67, 750-754, (1995)
15. Suh, J.H., Yun, J.W. and Kim, D.S., "Comparison of Pb<sup>2+</sup> Accumulation Characteristics Between Live and Dead Cells of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aureobasidium pullulans*", *Biotechnology Letters*, 20 (3), 247-251, (1998)
16. Bassari, A., Akyüz, T. and Kurtcebe, T., "The Removal of Th, Cs and Sr Ions from Solutions Using Granulated Pumice Stone", *J. of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry*, 26, 83-88, (1996)
17. Bruce M.M., "Ponza Pazarı", *M.T.A. Genel Müdürlüğü Fizibilite Etüdleri Dairesi*, Ankara (1991).
18. Bağ, H., Lale, M. and Türker, A. R., "Determination of Iron and Nickel by Flame Atomic Absorption Spectrophotometry after Preconcentration on *Saccharomyces cerevisiae* Immobilized Sepiolite", *Talanta*, 47, 689-697 (1998).
19. Skoog, D.A. and West, D.M., "Fundamentals of Analytical Chemistry 3<sup>rd</sup>ed." *Holt Rinehart and Winston*, USA, 790-791 (1976).
20. Elmahadi, H.A.M. Greanway, G.M., "Immobilization Algae as a Reagent for Preconcentration in Trace Element Atomic Absorption Spectrometry", *J. Anal. A. Spectrum.*, 6, 643-651 (1991).
21. Robles, L.C. and Aller, A.J., "Preconcentration of Beryllium on the Outer Membrane of *Esherichia coli* and *Pseudomonas putida* Prior to Determination by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry", *J. Anal. A. Spectrum.*, 9, 871-878 (1994)
22. Shengjun, M. and Holcombe, J.A., "Preconcentration of Copper on Algae and Determination by Slurry Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry", *Anal. Chem.*, 62, 1994-1997 (1990)
23. Tsezos, M., Baird, M.H.I and Shemilt, L.W., "The Elution of Radium Adsorbed by Microbial Biomass", *The Chem.*



*Eng. J.*, 34, B57-B62 (1987)

24. Nakajima, A., and Sakagucki, T., "Selective Accumulation of Heavy Metals by Microorganisms", *App. Microbiology and Biotech.*, 24, 59-65 (1986)
25. Tsezos, M., "Recovery of Uranium from Biological Adsorbents-Desorption Equilibrium", *Biotech. and Bioeng.*, 26, 973-981 (1984)
26. Lale, M., Temoçin, Z. and Bağ, H., "Sorption Behavior of Copper(II), Zinc(II) and Nickel(II) on Formaldehyde Cross-Linked *Saccharomyces cerevisiae* Immobilized on Pumice Stone " *Fresenius Environmental Bulletin*, 10, 736-740 (2001)

Received/ Geliş Tarihi: 21.03.2003      Accepted/Kabul Tarihi: 18.09.2003