Optimizing conditions of lead removal by Saccharomyces cerevisiae in laboratory condition

N. Yarke-Salkhori* N. Ghaemi** A. Nouhi***

* MSc. of Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Division of Sciences and Researches, Tehran, Iran
** Assistant Professor of Microbial Biotechnology, Department of Biotechnology, Faculty of Sciences, Tehran University, Tehran, Iran
***Professor of Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Sciences, Tehran University, Tehran, Iran

✸Abstract

Background: Lead enters the human body through water, food, air and accumulates in bones instead of calcium. It can damage nervous system, kidneys and genital system especially in children and also affects hemoglobin synthesis.

Objective: To optimize the environment conditions to increase the biosorption with Saccharomyces cerevisiae as well as cell immobilization and determination of its efficiency associated with degree of biosorption.

Methods: This was a cross-sectional study carried out at the Laboratory Center, Islamic Azad University, Sciences & Researches Division, Tehran (Iran) during 2009-2010. The strain of Saccharomyces cerevisiae used in this study was obtained from Lorestan yeast manufacturer, Lorestan, Iran.

All factors affecting biosorption including the initial lead concentration, contact time, and pH were investigated. Entrapment method was used to immobilize cells.

Findings: The maximum biosorption capacity of 80 mg g^{-1}dw was observed at the following conditions: contact time 2 h, initial lead concentration 500 ppm, and pH 4.5.

The metal biosorption capacity of pretreated yeast strain by autoclave was 35.3 mg g^{-1}dw. Also, the biosorption capacity of immobilized cells was almost doubled compared to that of free cells.

Conclusion: Regarding the data found in our study, non-pretreated and stabilized Saccharomyces cerevisiae is a suitable biosorbent for removal of lead ions from environment.

Keywords: Lead, Saccharomyces cerevisiae, Contact Time, pH, Immobilization

Corresponding Author*:* Najmeh Yarke-Salkhori, Department of Microbiology, Sciences and Researches Division, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, P.O. Box 14515/775, Tehran, Iran
Tel: +98- 9127863023
Email: mv_sys@yahoo.com
Received: 6 Jul 2010
Accepted: 23 Jan 2011

بهینه سازی شرایط حذف سرب توسط ساکارومایسس سرویزیه در شرایط آزمایشگاهی

نجمه یارکه سلخوری [*] دکتر ناصر قائمی [**] دکتر اشراف السادات نوحی [***]

[*] کارشناس ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران
[**] استادیار بیوتکنولوژی میکروبی دانشگاه تهران
[***] استاد میکروبیولوژی دانشگاه تهران

آدرس نویسنده مسوول: تهران، دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی، تلفن ۷۸۶۳۰۲۳ ۰۹۱۲
E-mail: mv_sys@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۸۹/۴/۱۵ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۱/۳

چکیده

زمینه: سرب از طریق آب، غذا و هوا وارد بدن انسان می‌شود و در استخوان‌ها به جای کلسیم تجمع می‌یابد. این عنصر می‌تواند به سیستم عصبی، کلیه‌ها و سیستم تناسلی به خصوص در کودکان آسیب برساند و در ساخت هموگلوبین نیز اثر گذارد.

هدف: مطالعه به منظور بهینه سازی شرایط جذب سرب توسط ساکارومایسس سرویزیه در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مقطعی در سال‌های ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸ در مرکز آزمایشگاهی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات ایران انجام شد. در این تحقیق از ساکارومایسس سرویزیه تجاری کارخانه خمیرمایه لرستان استفاده شد. عوامل مؤثر در جذب زیستی مانند غلظت اولیه فلز، زمان تماس و PH بررسی شدند. برای تثبیت سلول‌های مخمر از روش به دام انداختن استفاده شد.

یافته‌ها: بیش‌ترین میزان جذب مخمر (۸۰ میلی گرم بر گرم وزن خشک) در زمان تماس ۲ ساعت، غلظت فلز سرب ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و در PH ۴/۵ مشاهده شد. میزان جذب فلز توسط سویه مخمر پیش تیمار شده با روش اتوکلاو، ۳۵/۳ میلی‌گرم برگرم وزن خشک گزارش شد. میزان جذب توسط سلول‌های تثبیت شده در مقایسه با سلول‌های آزاد حدود دو برابر افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌ها، ساکارومایسس سرویزیه پیش تیمار نشده و تثبیت شده یک جذب کننده خوب برای حذف یون‌های سرب از محیط است.

کلید واژه‌ها: سرب، ساکارومایسس سرویزیه، جذب زیستی

مقدمه:

سرب فلزی نرم و سنگین به رنگ آبی مایل به خاکستری است که استفاده غیر مناسب از آن موجب بروز تناوبی خاصیت سمی در انسان‌ها می‌شود. فلز سرب توسط پساب انواع صنایع از قبیل صنایع نساجی و باتری سازی وارد محیط زیست می‌شود. سرب، سمی سیستمیک است که پس از جذب، بیش‌تر اعضای بدن را مورد حمله قرار می‌دهد. این عنصر میل ترکیبی زیادی به گروه سولفیدریل (SH) دارد. فعالیت آنزیم‌های وابسته به این گروه، تحت تأثیر آن متوقف می‌شود یا کاهش می‌یابد. این عنصر به جای کلسیم در سیستم زیست‌شناختی بدن عمل می‌کند؛ به طوری که حدود ۹۰ درصد آن در اسکلت انسان تجمع می‌یابد. همچنین با اسید نوکلئیک واکنش می‌دهد و به افزایش یا کاهش پروتئین منجر می‌شود. این عنصر بر بیوسنتز نیز تأثیر دارد. کودکان بیش‌تر در معرض تأثیر سرب بر اعصاب مرکزی قرار دارند. سرب همچنین روی دستگاه گوارش اثر می‌گذارد و باعث کولیت، بی‌اشتهایی، تهوع، استفراغ و یبوست می‌شود.[۱]

به طور عمده روش‌های زدودن یون‌های فلزی از محلول مایع شامل روش تصفیه فیزیکی، شیمیایی و زیستی است. از آنجا که روش‌های فیزیکی و شیمیایی در

زدودن غلظت‌های کم فلزهای سنگین کارایی ندارند و بسیار پرهزینه هستند، لذا در چند سال اخیر روش‌های زیستی، به خصوص روش‌های میکروبی جهت حذف فلزات سمی توصیه می‌شوند.[۲-۴]

فرایندهای زیستی مرسوم در پاک‌سازی فلزها شامل جذب زیستی، تجمع زیستی و ته نشینی زیستی هستند. اصطلاح جذب زیستی به صورت توانایی زیست توده میکروبی (غیرفعال، زنده و مرده) در متصل شدن به فلزهای سنگین یا آلاینده‌های موجود در محلول‌های رقیق تعریف می‌شود.[۵] ته نشینی زیستی به این معنی است که میکروارگانیسم‌ها می‌توانند فلزها را توسط گروه‌های سولفیدی، آنزیم فسفاتاز و احیای شیمیایی رسوب دهند و آن‌ها را به شکل غیر سمی یا با سمیت کم‌تر تبدیل نمایند.[۶]

تجمع زیستی سلول‌های میکروبی قادر به جمع‌آوری فلزات به واسطه فرایندهای متابولیکی خود هستند. تجمع زیستی فلزهای سنگین در سلول‌های مخمر شامل دو مرحله است. اولین مرحله سریع و غیر وابسته به متابولیسم و مستلزم اتصال به سطح دیواره سلولی است. دومین مرحله جذب آهسته تر و وابسته به متابولیسم است و مقادیر زیادتری از کاتیون‌های فلزی در مقایسه با جذب زیستی توسط زیست توده غیر زنده ذخیره می‌شود. [۵] مخمرها به دلیل بقا و رشد در مکان‌های آلوده به فلزهای سنگین و ظرفیت بالای اتصال فلز به دیواره سلول و میزان بالای جذب درون سلولی، نسبت به سایر میکروارگانیسم ها برای حذف ارجح هستند.[۷]

تثبیت سلول، امروزه به عنوان یک روش مناسب برای استفاده مجدد از میکروارگانیسم‌ها و محفوظ نگه داشتن آن‌ها از تغییرات مستقیم عوامل فیزیکوشیمیایی محیط به حساب می‌آید. همچنین ثبات و پایداری سلول افزایش می‌یابد و دستکاری آن آسان می‌شود.[۸]

روش به دام انداختن سلول‌ها درون بیدها، معمولی‌ترین روش در تثبیت سلول در شکل گرانولی است. در روش به دام انداختن، هیچ اتصال فیزیکی بین سلول و حامل وجود ندارد. سلول به محلول پلیمری اضافه می‌شود و یک عامل شیمیایی یا دما باعث شروع پلیمراسیون شده و ماتریکس یا ژل اطراف سلول تشکیل می‌شود. سپس پلیمر به قطعه‌های کوچک‌تر برش داده می‌شود تا با افزایش نسبت سطح به حجم، سرعت واکنش افزایش یابد و جرم راحت‌تر منتقل شود.[۸] لذا، این تحقیق با هدف بهینه‌سازی شرایط جذب فلز سرب توسط مخمر ساکارومایسس سرویزیه در شرایط آزمایشگاهی و همچنین تعیین تأثیر تثبیت و پیش تیمار کردن سلول‌ها بر توانایی جذب فلز انجام شد.

* مواد و روش‌ها:

این مطالعه مقطعی در مرکز آزمایشگاهی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات در سال‌های ۱۳۸۷ تا ۱۳۸۸ انجام شد. سویه تجاری از کارخانه خمیر مایه لرستان (واقع در استان لرستان) گرفته شد. مقدار ۰/۱ گرم مخمر نانوایی فعال و خشک را به ۱۰میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه کرده و سپس سوسپانسیون حاصل را در ۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در ۴ سانتی‌گراد سانتریفیوژ و محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ جدا شد. رسوب که همان سلول‌های مخمر بود در پلیت حاوی محیط سابورود دکستروز آگار کشت داده و پلیت به مدت ۲۴ ساعت در ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد. این پلیت ۳ تا۴ مرتبه تجدید کشت شد تا پلیت حاوی کلنی‌های درشت و محدب به دست آید. بعد از کشت مجدد، سویه را بر روی لوله حاوی محیط مالت اکستراکت آگار کشت داده و ۲۴ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد گرما گذاری شد. سپس، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به لوله کشت افزوده و هم زده شد تا مخمر در آب مقطر استریل سوسپانسیون شود. سوسپانسیون به ارلن۱۰۰۰ میلی‌لیتر حاوی۲۰۰ میلی‌لیتر محیط مالت اکستراکت براث (MEB) افزوده و به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر با حرکت دورانی ۱۲۰ دور بر دقیقه و ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد. سپس محیط کشت سانتریفیوژ و سلول‌های مخمر ته نشین شدند. مقدار

۰/۵ گرم وزن مرطوب از رسوب به دست آمده در فور با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ساعت خشک و سپس وزن خشک آن با ترازو اندازه‌گیری شد که برابر با ۰/۱ گرم بود. در تمام آزمایش‌های انجام شده از ۰/۵ گرم وزن مرطوب مخمر که معادل با ۰/۱ گرم وزن خشک بود، استفاده شد.[۱۰و۱۱]

جهت محاسبه میزان جذب فلز سرب طی تمام آزمایش‌ها، طبق معادله $q = V(C_i-C_f)/S$ عمل شد که q میزان جذب فلز توسط بیومس (میلی‌گرم بر گرم)، C_i غلظت اولیه یون سرب در محلول (میلی‌گرم بر لیتر)، C_f غلظت نهایی یون سرب در محلول(میلی‌گرم بر لیتر)، V حجم محلول فلزی که با بیومس مجاور سازی شده (لیتر)، S مقدار بیومس اضافه شده بر مبنای وزن خشک (گرم) است.[۱۲]

برای بررسی اثر pH روی جذب، ابتدا محلول فلزی سرب در محدوده pH، ۲/۵ تا ۵/۵ تهیه شد. به علت رسوب یون‌های سرب در مقادیر بالاتر pH، آزمایش‌ها در مقادیر بالاتر pH انجام نشد. این آزمایش برای تمام pH ها در شرایط کاملاً یکسان از نظر حرارت (۲۸ درجه سانتی‌گراد)، دور شیکرـ انکوباتور (۱۲۰ دور بر دقیقه) انجام شد. بعد از پایان زمان مجاورت در هر آزمایش، با همان شرایط هر نمونه سانتریفیوژ و میزان فلز باقی مانده در محلول توسط اسپکتروفتومتر جذب اتمی (Varian(AA۲۰۰ تعیین شد. این آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند.[۱۳]

برای بررسی اثر غلظت‌های مختلف محلول سرب، حجم محلول فلزی۵۰ میلی‌لیتر، حجم ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتر، غلظت سرب ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰ و۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، دما ۲۸ درجه سانتی‌گراد، دور شیکر۱۲۰ دور بر دقیقه ، وزن خشک بیومس ۰/۱گرم، مدت زمان مجاور سازی۲ و ۲۴ ساعت pH ۴/۵ بود. سایر عوامل مؤثر بر میزان جذب سرب مانند زمان تماس و دما نیز بررسی شدند.

بیومس مخمر توسط اتوکلاو و با روش زیر پیش تیمار شد. ۵ گرم از سلول‌های مخمر ساکارومایسس سرویزیه با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

سپس از نمونه غیر فعال شده به میزان ۰/۵ گرم وزن مرطوب یا ۰/۱گرم وزن خشک برداشته و با ۵۰ میلی‌لیتر محلول فلزی نیترات سرب (II) با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و pH ۴/۵ طی مدت زمان ۲ و۲۴ ساعت، در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و در شیکر با حرکت دورانی معادل ۱۲۰ دور بر دقیقه مجاور سازی شد. همزمان از یک نمونه شاهد و فعال از نظر متابولیسمی نیز استفاده شد. پس از گذشت زمان ۲ و ۲۴ ساعت از آغاز مجاور سازی، نمونه‌ها در همان شرایط سانتریفیوژ شدند و محلول رویی آن‌ها جهت تعیین غلظت فلز سرب با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی مورد سنجش قرار گرفت.

به منظور مطالعه اثر تهیه بیومس ساکارومایسس سرویزیه در شرایط بی‌هوازی بر میزان جذب فلز سرب، به فانل استریل که تا سه چهارم آن محیط مالت اکستراکت براث بود مخمر اضافه شد. سپس فانل به مدت ۷۲ ساعت درون انکوباتور قرار داده شد. پس از طی زمان لازم، نمونه در شرایط ۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد که رسوب حاصل حاوی سلول‌های مخمر تولید شده در شرایط بی‌هوازی بود. سپس ۰/۵ گرم وزن مرطوب بیومس و با ۵۰ میلی‌لیتر محلول فلزی نیترات سرب (II) با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و pH ۴/۵ ،به مدت۱ ساعت، در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و بر روی شیکرـ انکوباتور مجاورسازی شد. همزمان از یک نمونه شاهد که بیومس آن در شرایط هوازی رشد یافته بود نیز استفاده شد. بعد از پایان زمان مجاورت در هر آزمایش هر نمونه با همان شرایط سانتریفیوژ و میزان فلز باقی مانده در محلول توسط اسپکتروفتومتر جذب اتمی تعیین شد. این آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند.

برای تثبیت سلول درون ژل آگار، ابتدا محلولی از آگار (آگار در آب دیونایز) با غلظت ۳ درصد ساخته و سپس محلول استریل شد. بعد از سرد شدن محلول آگار، به آن سوسپانسیون مخمر ۵ درصد اضافه و سپس مخلوط درون پلیت ۲۰ میلی‌لیتر استریل ریخته و در دمای

۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از بستن ژل، توسط تیغ استریل به ابعاد ۵ میلی‌متر برش داده شد.[۸] سپس تکه‌های حاوی سویه مخمر در درون ارلن استریل که حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محلول ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب بود، ریخته و درون شیکر ـ انکوباتور با ۱۲۰ دور بر دقیقه و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار داده شد. بعد از پایان زمان مجاورت در هر آزمایش، تکه‌ها توسط کاغذ صافی جمع آوری شدند و محلول باقی مانده در نمونه پس از تهیه رقت مناسب، به منظور سنجش میزان جذب سرب توسط دستگاه اسپکتروفتومتری جذب اتمی مورد بررسی قرار گرفت.

برای تثبیت سلول مخمر درون آلژینات کلسیم، ابتدا محلول سدیم آلژینات (w/v ۳درصد) تهیه شد. سپس محلول آلژینات سدیم با سوسپانسیون مخمر ۵ درصد مخلوط و هم زده شد تا یکنواخت شود. مخلوط آلژینات ـ سلول با استفاده از سرنگ ۲۰ میلی‌لیتر به آرامی به داخل محلول ۰/۲ مول کلرید کلسیم چکانده شد. گویه‌های تشکیل شده برای ۲ ساعت در محلول ۰/۲ مول کلرید کلسیم باقی ماندند تا گویه‌ها پایدار شوند. سپس گویه‌ها توسط آب دیونایز استریل دوبار شستشو داده شدند تا کلسیم آزاد شسته شود. میانگین اندازه بیدها ۳ میلی‌متر بود.[۸] گویه‌های حاوی سلول‌های مخمر درون ارلن استریل حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محلول۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب ریخته و درون شیکر ـ انکوباتور با ۱۲۰ دور بر دقیقه و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار داده شدند. بعد از پایان زمان مجاورت در هر آزمایش، گویه‌ها توسط کاغذ صافی جمع آوری شدند و به منظور سنجش میزان جذب سرب از دستگاه اسپکتروفتومتری جذب اتمی استفاده شد. این آزمایش‌ها سه بار تکرار شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماریSPSS و آمار توصیفی تحلیل شدند.

*** یافته‌ها:**

با افزایش pH از ۲/۵ به ۴/۵، میزان جذب فلز سرب افزایش یافت و بیش‌ترین میزان جذب درpH ۴/۵ بود. همچنین با افزایش دما از ۲۲ به ۲۸ درجه سانتی‌گراد، میانگین میزان جذب سرب توسط مخمر ساکارومایسس سرویزیه افزایش یافت. ولی با بالا رفتن دما از ۲۸ درجه سانتی‌گراد و همچنین PH بیش‌تر از ۴/۵، میزان جذب کاهش یافت (جدول شماره ۱).

جدول۱- میانگین جذب یون سرب در pH و دماهای مختلف

pH	میزان جذب (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)	دما (سانتی‌گراد)	میزان جذب (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)
۲/۵	۶/۷۵	۲۲	۴۵/۷
۳/۵	۲۷	۲۸	۸۰
۴/۵	۸۰	۳۲	۵۴/۱۳
۵/۵	۴۶/۷۵	۴۲	۴۷/۴۴

توانایی جذب فلز سرب توسط مخمر با افزایش غلظت سرب از ۵۰ به ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، افزایش یافت. البته با افزایش غلظت سرب به ۷۵۰ میلی‌گرم در لیتر میزان جذب سرب به مقدار کمی افزایش یافت(جدول شماره۲) .

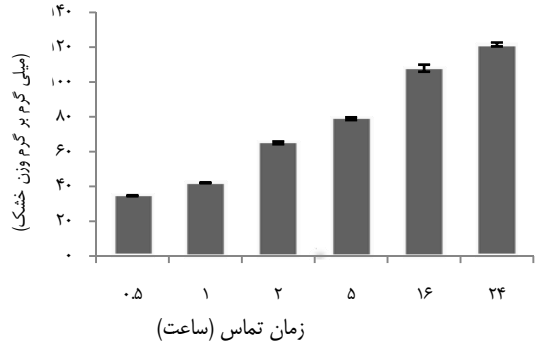
جدول ۲- میانگین جذب یون سرب در غلظت‌های مختلف محلول سرب

غلظت فلز (میلی‌گرم در لیتر)	۵۰	۱۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۷۵۰
میزان جذب (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)	۲۳/۵۵	۳۵/۸	۴۷/۳	۸۰	۸۷

با افزایش زمان تماس از ۰/۵ تا ۲ ساعت، میزان جذب سرب توسط مخمر به سرعت افزایش یافت؛ در حالی که

با طولانی شدن زمان تماس از ۲ تا ۲۴ ساعت، این افزایش تدریجی بود (نمودار شماره۱).

نمودار ۱- میانگین جذب یون سرب در زمان‌های تماس مختلف



میانگین میزان جذب فلز سرب در نمونه پیش تیمار شده توسط اتوکلاو، ۳۵/۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. این میزان توسط سویه‌ای رشد یافته در شرایط بی‌هوازی، ۱۵میلی‌گرم بر گرم وزن خشک و توسط سویه رشد یافته در شرایط هوازی، ۲۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود.

میزان جذب سرب به وسیله ساکارومایسس سرویزیه تثبیت شده با آگار، ۱۸۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک و توسط سلول‌های تثبیت شده با آلژینات کلسیم، ۱۵۰/۷۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گزارش شد.

* بحث و نتیجه‌گیری:

در این مطالعه بیش‌ترین میزان جذب سرب ۸۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در pH ۴/۵، غلظت فلز ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، زمان تماس ۲ ساعت و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. با تثبیت مخمر در آگار و آلژینات کلسیم میزان جذب به ترتیب از ۸۰ به ۱۸۳ و ۱۵۰/۷۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک افزایش یافت. با پیش تیمار کردن سلول‌ها توسط اتوکلاو میزان جذب از ۸۰ به ۳۵/۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک کاهش یافت. در مقادیر pH بیش‌تر از۴/۵، میزان جذب کاهش یافت.

در pH های پایین میل ترکیبی یون‌های هیدرونیوم $[H_3O^+]$ پروتون به لیگاندهای دیواره سلولی نسبت به یون‌های فلزی زیادتر است؛ در حالی که در pH بالاتر مانند ۵، میل ترکیبی کاتیون‌های دی‌والانت مثبت فلزی نسبت به پروتون بیش‌تر است.[۱۴] در مقادیر pH بالاتر از ۵/۵ به علت افزایش غلظت یون‌های OH^- در محلول، سرب به صورت $Pb(OH)_2$ رسوب می‌کند. با توجه به آنچه گفته شد با افزایش pH سیستم جذب توانایی جذب کاتیون‌های فلزی افزایش می‌یابد، البته این افزایش به صورت یک رابطه خطی نیست. از طرف دیگر، مقادیر بالای pH می‌تواند باعث ته‌نشینی کمپلکس‌های فلزی شود بنابراین، باید در طول آزمایش از افزایش pH جلوگیری شود.[۱۵]

پارواتهی و همکاران طی بررسی بر روی جذب زیستی سرب از پساب کارخانه‌های باتری‌سازی به وسیله مخمر ساکارومایسس سرویزیه مشاهده کردند که با افزایش میزان pH محلول فلز، میزان جذب یون‌های سرب نیز بیش‌تر شد. بهترین جذب فلز در pH ۵ به دست آمد، ولی در مقادیر pH بیش‌تر از ۵، میزان جذب کاهش یافت.[۱۶]

در این مطالعه با افزایش غلظت سرب از ۵۰ به ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، توانایی جذب فلز سرب توسط مخمر افزایش یافت. با افزایش غلظت اولیه یون فلزی اثر نیرو گرادیان غلظت یون فلزی، نیز افزایش می‌یابد. اگر غلظت یون‌های فلزی در محلول زیادتر شود، محل‌های فعال مخمر به وسیله یون‌های فلزی بیش‌تری احاطه می‌شود. و در نتیجه فرایند جذب بیش‌تر می‌شود.[۱۲]

در مطالعه حاضر با افزایش غلظت محلول فلز سرب ۵۰۰ به ۷۵۰ میلی‌گرم در لیتر، میزان جذب فلز به مقدار کمی افزایش یافت. می‌توان توجیه نمود که احتمالاً مخمر در حضور عنصر سمی سرب، قسمتی از توانایی جذب خود را از دست می‌دهد و یا اینکه به طور کامل این توانایی از بین می‌رود و بدین ترتیب جذب سرب از طریق مکانیسم تجمع زیستی حذف می‌شود. در مطالعه حاضر کابوک و همکاران نیز با افزایش غلظت یون‌های سرب از۷۵ به ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر میزان جذب فلز سرب به وسیله ساکارومایسس سرویزیه تثبیت شده افزایش یافت. اما با

افزایش غلظت یون‌های سرب از ۲۵۰ به ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر، میزان جذب فلز به مقدار جزیی افزایش داشت.[۱۲]

در این مطالعه میزان جذب سرب با افزایش زمان تماس از ۰/۵ تا ۲ ساعت به سرعت افزایش یافت، در حالی که با طولانی شدن زمان تماس از ۲ تا ۲۴ ساعت به تدریج بر میزان جذب افزوده شد. سو و همکاران فرایند تجمع یون‌های سرب را در ساکارومایسس سرویزیه به وسیله میکروسکوپ الکترونی TEM بررسی و مشاهده کردند که تجمع سرب در ابتدا خیلی سریع بود؛ به طوری که اتصال سرب به سطح دیواره و غشای سلول بعد از چند دقیقه شروع شد. بعد از ۵۰ دقیقه، تجمع سرب روی دیواره و غشای سلول مشاهده شد .سرب بعد از ۲ ساعت به طور کامل به درون سیتوپلاسم نفوذ کرده؛ به طوری که بعد از ۲ ساعت به مقدار زیادی سرب در سیتوپلاسم تجمع یافت. همه سلول‌های ساکارومایسس سرویزیه بعد از ۵ روز با سرب پوشیده شدند، به طوری که تشخیص ارگانل‌های داخل سلول غیرممکن بود.[۱۷]

در مطالعه حاضر با افزایش دما از ۲۲ به ۲۸ درجه سانتی‌گراد، میزان جذب سرب توسط مخمر افزایش، ولی با بالا رفتن دما از ۲۸ درجه سانتی‌گراد میزان جذب کاهش یافت. دما در محدوده مشخصی روی جذب زیستی یون‌های فلزی تأثیر دارد. با توجه به این که واکنش‌های جذب به طور طبیعی گرمازا، هستند بنابراین با کاهش دما توانایی جذب زیستی افزایش می‌یابد.[۱۸] جذب فلز در دمای خیلی بالا، به علت واپیچش بعضی از محل‌های اتصال فلز موجود در سطح سلول، کاهش می‌یابد.[۱۱] معمولاً به علت هزینه بالای بهره‌برداری، فرایند جذب زیستی در دمای بالا انجام می‌شود.[۱۹]

دریک مطالعه،حداکثر تعادل جذب زیستی برای یون‌های نیکل، سرب و کروم (VI) به وسیله ساکارومایسس سرویزیه غیر فعال شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به دست آمد. کاهش در توانایی جذب در دمای ۲۵ تا۴۰ درجه سانتی‌گراد نشان داد که فرایند جذب زیستی برای یون‌های فلزی ذکر شده توسط ساکارومایسس سرویزیه گرمازاست.[۲۰]

در این تحقیق توانایی جذب سرب توسط سلول‌های پیش تیمار شده با اتوکلاو کاهش یافت. کاهش ظرفیت جذب فلز سرب در سلول‌های پیش تیمار شده ممکن است به علت آسیب محل‌های فعال اتصال در زیست توده باشد.[۲۱] همچنین در نتیجه پیش تیمار سلول‌ها مخمر می‌میرند، بنابراین فرایند تجمع فلز سرب که یک فرایند وابسته به متابولسیم است، رخ نمی‌دهد و به دنبال آن توانایی جذب فلز در سلول‌های پیش تیمار شده کاهش می‌یابد.[۲۱] کابوک و همکاران نشان دادند که میزان جذب زیستی سرب توسط پنی سیلیوم وروکوزوم پیش تیمارشده با اتوکلاو و حرارت در مقایسه با سلول‌های زنده افزایش یافت. در حالی که میزان جذب فلز سرب توسط آسپرژیلوس ورسیکولور پیش تیمار شده با حرارت و اتوکلاو، اثر عکس داشت. همچنین در زیست توده وار.انیسوپلیای و م.انیسوپلیای. پیش تیمار شده با استفاده از حرارت، میزان جذب فلز سرب افزایش یافت؛ در صورتی که پیش تیمار با اتوکلاو به طور کلی مانع جذب سرب شد. کاهش توانایی جذب زیستی در زیست توده-های آسپرژیلوس ورسیکولور پیش تیمار شده با اتوکلاو و حرارت و وار.انیسوپلیای و م.انیسوپلیای اتوکلاو شده، به فقدان جذب داخل سلولی نسبت داده شد.[۲۱] به هرحال بعضی از محققان بیان کرده‌اند که پیش تیمار حرارت و اتوکلاو بر توانایی جذب زیستی در زیست توده میکروبی می‌افزاید و این افزایش به دلیل عرضه سایت‌های اتصال بالقوه بعد از پیش تیمار است.[۲۳]

در این مطالعه تثبیت درون آگار باعث افزایش میزان جذب فلز سرب توسط ساکارومایسس سرویزیه شد. بدیهی است اگر قابلیت جذب فلز تنها عامل مورد بررسی باشد، آگار بهترین حامل برای تثبیت ساکارومایسس سرویزیه است. ولی برای استفاده در مقیاس صنعتی، عوامل دیگری مانند مقاومت مکانیکی و غیره هم مهم هستند.[۲۳] لذا آگار حامل مناسبی در مقیاس صنعتی نیست. اگر چه میزان جذب فلز توسط ساکارومایسس سرویزیه تثبیت شده درون آلژینات کلسیم نسبت به آگار

کم‌تر بود، ولی به علت مقاومت مکانیکی بالاتر آلژینات کلسیم، این حامل برای استفاده در مقیاس صنعتی بهتر است.[۲۳]

لی یو و همکاران بیان کردند که میزان جذب امریسیوم-۲۴۱ به وسیله ساکارومایسس سرویزیه تثبیت شده با حامل‌های مختلف در زمان تماس ۲ ساعت به ترتیب زیر کاهش یافت : آگار، آلژینات کلسیم و در نهایت کمترین میزان مربوط به پلی آکریل آمید بود.[۲۳] عمل تثبیت مخمر باعث افزایش میزان جذب فلز سرب توسط مخمر شد.

* مراجع:

1. Pajohande A, Shariati Torbghari A.Toxicity of treatment and diagnosis .Tehran: Chehreh Publication; 1999. 253-4[In Persian]
2. Goyal N, Jain SC, Banerjee UC. Comparative studies on the microbial adsorption of heavy metals. Adv Environ Res 2003;7:311–9 [In Persian]
3. Veglio F, Beolchini F. Removal of metals by Biosorption- a review. Hydrometallurgy 1997; 44:301-16
4. Volesky B. Biosorption and biosorbents. In: Volesky B, editor. Biosorption of heavy metals. Florida: CRC press; 1990. 3-5
5. Skountzou P, Soupioni M, Bekatorou A, et al. "Lead (II) uptake during baker s yeast production by aerobic fermentation of molasses. Process Biochemistry 2003; 38: 1479-82
6. Tfezos M. Biological removal of ions-principles and application. Advanced materials research 2007; 20-21: 589-96
7. Goksungur Y, Uren S, Guvenc U. Biosorption of cadmium and lead ions by ethanol treated waste baker's yeast biomass. Bioresour Technol 2005 Jan; 96 (1):103-9
8. Sathyanarayan NG, Ganesh KB, Devarai S. Enhanced degradation of caffeine by immobilized cells of Pseudomonas sp. in agar-agar matrix using statistical approach. BEJ (Biochemical Engineering Journal) 2009; 44:136-41
9. Soudi M. Fermentation processes theory and experiment. Tehran: Al Zahra University Publication 1999. 60-90
10. Deng Lg, Su Y, Su H , et al. Biosorption of copper (II) and lead (II) from aqueous solutions by nonliving green algae Cladophora f ascicularis- Equilibrium, kinetics and environmental effects. Adsorption 2006.12:267–77
11. Cabuk A, Akar T, Tunali S, et al. Biosorption of Pb (II) by industrial strain of saccharomyces cerevisiae immobilized on the biomatrix of cone biomass of pinus nigera-equilibrium and mechanism analysis. Che Eng J 2007;131: 293-300
12. Mihova ST, Godjevargova: T Biosorption of heavy metals from aqueous solutions. J Intera Resea Public (Journal of Interational Reseacher Publication) 2000;67-71
13. Norton S, Amore T. Physiological effects of yeast cell immobilization. application for brewing. Enzyme Microb Technol,1994; 16: 365-76
14. Volesky B. Biosorption by fungal biomass. In: Volesky B, editor. Biosorption of heavy metals. 2nd- edition,Florida: CRC press; 1990.140-71
15. Parvathi K , Nagendran R, Nareshkumar R. Lead biosorption onto waste beer yeast by-product, a means to decontaminate effluent generated from battery manufacturing industry. EJB (Electronic Journal of Biotechnology) 2007;10 (1):
16. Suh JH, Kim DS, Yun JW, et al. Process of Pb2+ accumulation in Saccharomyces cerevisiae. Biotechnol Lett 1998; 20(2):153–6
17. Kapoor A, Viraraghavan T Fungi as biosorption. In: Wase DAJ, Forster CF,

editors. Biosorbents for metal Ions. London, UK: Taylor & Francis; 1997. 67–85

18. Wang JL. Immobilization techniques for biocatalysts and water pollution control. Beijing: Science Press; 2002.120-130

19. Őzer A, Őzer D. Comparative study of the Biosorption of Pb(II), Ni(II) and Cr(VI) ionsonto S.cerevisiae: determination of biosorption heats . J Hazard Mater 2003, Jun 27; 100- 219-29

20. Suh JH, Yun JW, Kim DS. Comparison of Pb2+ accumulation characteristics between live and dead cells of Saccharomyces cerevisiae and Aureobasidium pullulans. Biotechnol Lett 1998; 20:247–51

21. Cabuk A, Ilhan S, Filik C, et al. Pb^{2+} Biosorption by pretreated fungal biomass. Turk J Biol 2005; 29: 23-8

22. Liu N, Liao J, Luo S, et. al Biosorption of 241Am by immobilized Saccharomyces cerevisiae. J Radioanal.Nucl.Chem 2003; 258 (1): 59-63