

PACS numbers: 68.43.Mn, 82.39.-k, 82.40.Qt, 82.45.Tv, 87.15.R-, 87.18.-h, 87.85.M-

Кінетика біосорбції йонів міді дріжджами, міченими частинками наномагнетиту

М. В. Маніло, В. В. Лізунов*, І. А. Ар'єв**

*Національний технічний університет України «КПІ»,
просп. Перемоги, 37,
03056 Київ, Україна*

**Інститут металофізики ім. Г. В. Курдюмова НАН України,
бульв. Акад. Вернадського, 36,
03680, МСП, Київ-142, Україна*

***Інститут біоколоїдної хімії ім. Ф. Д. Овчаренка НАН України,
бульв. Акад. Вернадського, 42,
03142 Київ, Україна*

В роботі досліджено процес біосорбції йонів міді магнетокерованими дріжджами *S.cerevisiae*. Магнетні властивості дріжджовим клітинам надавалися шляхом приєднання різної кількості магнетних наноміток. Було визначено оптимальну кількість магнетних наноміток, яка дозволяє ефективно вилучати дріжджові клітини методом магнетної сепарації, не зменшуючи при цьому сорбційну здатність клітин.

Biosorption of copper ions by magneto-controlled yeasts *S.cerevisiae* is investigated. Magnetic properties are imparted to the yeast cells by joining of different amounts of magnetic nanolabels. The optimum amount of magnetic nanolabels, which allows effectively extract yeast cells by the method of magnetic separation and does not diminish a sorption ability of cells, is determined.

В работе исследован процесс биосорбции ионов меди магнитоуправляемыми дрожжами *S.cerevisiae*. Магнитные свойства дрожжевым клеткам придавались путем присоединения разного количества магнитных нанометок. Было определено оптимальное количество магнитных нанометок, которое позволяет эффективно извлекать дрожжевые клетки методом магнитной сепарации, не уменьшая при этом сорбционную способность клеток.

Ключові слова: дріжджі, йони міді, біосорбція, кінетика біосорбції.

(Отримано 20 вересня 2010 р.)

1. ВСТУП

Однією з основних проблем, пов'язаних зі станом довкілля, є забруднення ґрунтів і природних вод йонами важких металів, радіонуклідами та їхніми сполуками, яке відбувається внаслідок швидкої індустріалізації і втручанням сучасних технологій у життя природи і людини. Сучасні фізико-хімічні способи очищення технологічних розчинів від йонів важких металів не завжди забезпечують необхідний ступінь вилучення цих катіонів, а також вимагають значних коштів та енерговитрат, внаслідок чого виникає питання щодо удосконалення існуючих або розроблення нових метод очищення рідин від йонів важких металів. Разом з цим, біологічний матеріал відомий своєю здатністю до сорбції йонів важких металів, а сучасні нанобіотехнології дозволяють ефективно вилучати біооб'єкти разом зі сорбованими ними йонами металів із розчинів у швидкісному режимі за допомогою магнетних сепараторів [1]. У зв'язку з цим все більшого поширення набувають методи очищення рідин від йонів важких металів за допомогою магнетної сепарації з використанням біосорбентів, яким надаються магнетні властивості (методи магнетокерованої біосорбції) [2, 3].

Таким чином, важливою задачею є вибіркоче надання біологічним об'єктам бажаних значень магнетної сприйнятливості, які б забезпечили їхнє ефективне вилучення магнетними сепараторами. Відомо, що дріжджові клітини *S.cerevisiae* ефективно взаємодіють із магнетними частинками за низьких значень рН, що можна використати для формування магнетомічених або магнетокерованих сорбентів. Спроби виготовлення магнетокерованих сорбентів приєднанням мікрочастинок до дріжджів *S.cerevisiae* виконуються вже доволі тривалий час (див., наприклад, [4]), але не завжди є вдалимими. Це пов'язано з тим, що приєднуючись до дріжджової клітини мікрочастинки займають сайти зв'язування, внаслідок чого зменшується сорбційна здатність біосорбенту. Логічним удосконаленням метод одержання магнетокерованих біосорбентів є використання при виготовленні магнетокерованого біосорбенту магнетних наночастинок замість мікрочастинок.

Для виконання магнетокерованої біосорбції перш за все необхідно визначити оптимальну кількість магнетних міток для одержання магнетокерованого біосорбенту. Оптимальною кількістю магнетних міток будемо вважати таку їхню мінімальну кількість, яка дозволяє ефективно вилучати дріжджові клітини методом магнетної сепарації, не зменшуючи при цьому сорбційну здатність клітин. Метою даної роботи був пошук оптимального співвідношення між кількістю дріжджових клітин та магнетних наноміток для створення магнетоміченого біосорбенту та дослідження його адсорбційної ефективності при різних початкових концентраціях йонів міді.

2. МЕТОДИКА ВИКОНАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТУ

Для приготування суспензії дріжджів до пресованої біомаси хлібопекарських дріжджів (ЗАТ «Ензим», Львів) додавали дистильовану воду до повного суспендування.

Водний розчин наномангнетиту (Fe_3O_4), стабілізований перхльорною кислотою, був одержаний за допомогою удосконаленої стандартної методи [5]: у дистильованій воді розчиняємо $\text{FeSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ та $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ у масовому співвідношенні 1:1.82. Одержану суміш вливали у 5% розчин аміаку. Желеподібний преципітат відділявся від рідини за допомогою постійного магнету та тричі промивався дистильованою водою. Для підвищення ступеню дисперсності магнетит обробляли ультразвуком частотою 22 кГц протягом 10 хв. за допомогою приладу УЗДН-2Т. Для стабілізації додавали 2М розчин перхльорної кислоти та центрифугували протягом 30 хв. з частотою 2000 об./хв.

Одержані магнетні наномітки приєднували у кількості 2, 4, 6 та 8% об. шляхом механічного перемішування при швидкості 180 об./хв. протягом 6 хв. до дріжджових клітин *S. cerevisiae* попередньо оброблених HNO_3 (рН 2.5). Початкова концентрація наномангнетиту була $0,1 \text{ кг/м}^3$, а дріжджів складала $4-8 \cdot 10^{12} \text{ кл/см}^3$. Додавання азотної кислоти полегшує приєднання наномангнетиту до дріжджової поверхні, а також перешкоджає утворенню нерозчинних солей міді [6].

Адсорбція йонів міді здійснювалась із модельних стоків. Вивчення сорбційної здатності дріжджових клітин з приєднаними до них магнетними наномітками здійснювалося для концентрацій йонів міді 50, 75, 100 та 150 мг/дм^3 . Інтенсифікація процесу сорбції здійснювалась шляхом механічного перемішування реакційної суміші. Приготування початкових зразків виконувалося ваговою методою. Адсорбція виконувалася у колбах об'ємом 50 см^3 при температурі 293 К. Концентрація йонів Cu^{2+} визначалася протягом 60 хв. кожні 1-5 хв. кольориметричною методою по інтенсивності забарвлення комплексу $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ на спектрофотометрі СФ-46 (Росія) при довжині хвилі $\lambda = 590 \text{ нм}$.

3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На рисунку 1 наведено графіки залежностей залишкової концентрації йонів міді в розчині від часу біосорбції при різних початкових значеннях рН суспензії дріжджів. Характер сорбції йонів міді дріжджами при рН 7.0 та 2.0 є подібним, але зниження рН робочого розчину до 2.0 прискорює перебіг процесів сорбції та десорбції протягом першої години та, в порівнянні із рН = 7.0, призводить до переважання процесу десорбції впродовж наступних двох. Оптимальний час біосорбції, який визначається максимальною кількістю ви-

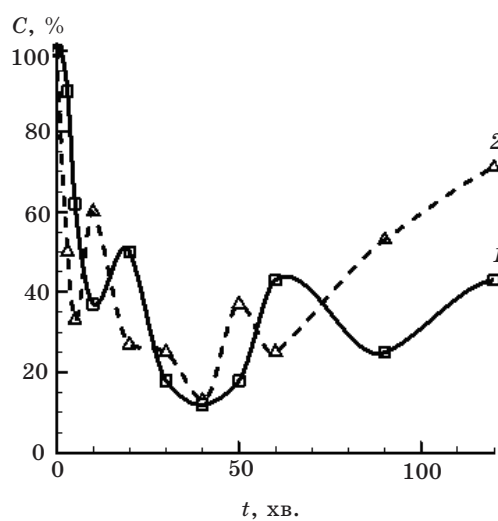


Рис. 1. Залежність величини залишкової концентрації йонів Cu^{2+} від часу при різних початкових значеннях рН суспензії дріжджів: рН = 7 (крива 1), рН = 2 (крива 2).

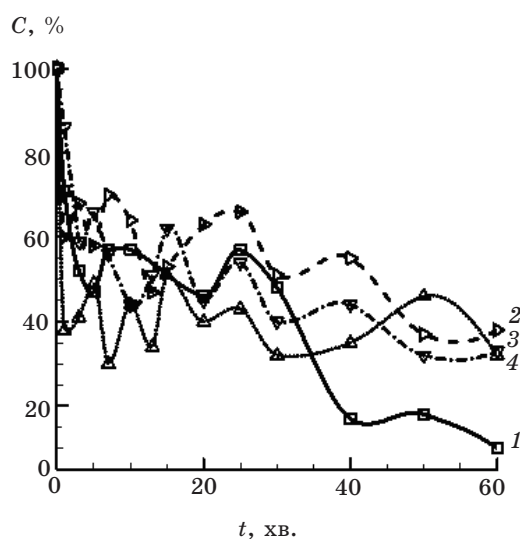


Рис. 2. Залежність величини залишкової концентрації йонів Cu^{2+} від часу для біосорбенту із 2% об. наномагнетиту. Початкова концентрація йонів міді 50 мг/дм^3 (1), 75 мг/дм^3 (2), 100 мг/дм^3 (3) та 150 мг/дм^3 (4) [7].

лучених йонів Cu^{2+} є однаковим для досліджених значень рН і складає 40 хв. для механічного перемішування.

Типові залежності залишкової концентрації йонів міді Cu^{2+} у ро-

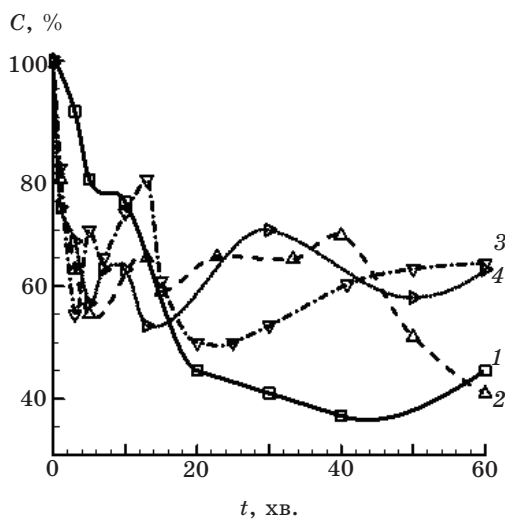


Рис. 3. Залежність величини залишкової концентрації йонів Cu^{2+} від часу для біосорбенту із 4% об. наноманетиту. Початкова концентрація йонів міді 50 мг/дм^3 (1), 75 мг/дм^3 (2), 100 мг/дм^3 (3) та 150 мг/дм^3 (4) [7].

зчині від часу виконання біосорбції для різного складу біосорбенту представлені на рис. 2–5.

Для біосорбенту, що містить 2% об. наноманетиту, характерною є двоступнева адсорбція (див. рис. 2). Це збігається із загальновідомими уявленнями про кінетику процесу сорбції. Як показано, наприклад, в [8] спочатку йони металу адсорбуються на клітинній стінці за рахунок взаємодії з поверхневими функціональними групами (пасивна біосорбція), а далі проникають через мембрану до клітини (активна біосорбція). Час встановлення сорбційної рівноваги для пасивної біосорбції складав 20–50 хв. Після стадії пасивної біосорбції починається процес активного вбирання йонів міді із активацією внутрішньоклітинних механізмів детоксикації. Швидкість активної біосорбції у перші 30 хв. складала $0,067\% / \text{хв}$.

Для біосорбенту, що містить 4% об. наноманетиту, також характерною є двоступнева адсорбція (рис. 3). Тривалість пасивної біосорбції складала 3–20 хв. Швидкість активної біосорбції у перші 30 хв. складала $0,1\% / \text{хв}$.

На рисунку 4 представлена залежність залишкової концентрації йонів міді Cu^{2+} у розчині від часу для біосорбенту із 6% об. наноманетиту, що характеризується двоступневою сорбцією із максимальним вбиранням йонів міді магнетоміченими дріжджами у перші 3–10 хв. Встановлення сорбційної рівноваги відбувається протягом перших 20 хв. Тривалість пасивної біосорбції в цьому випадку теж складала 3–20 хв. Швидкість активної біосорбції у перші 30 хв.

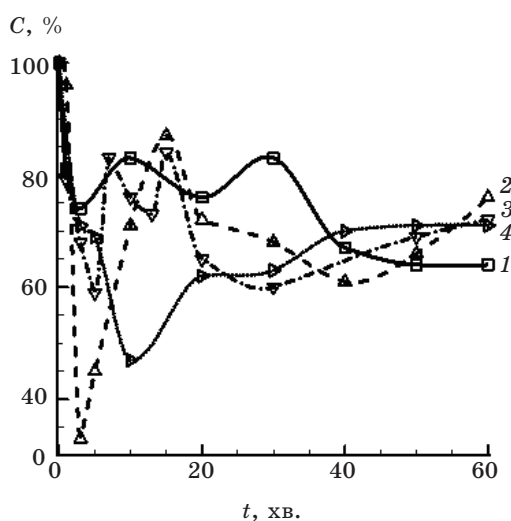


Рис. 4. Залежність величини залишкової концентрації іонів Cu^{2+} від часу для біосорбенту із 6% об. наномігнетиту. Початкова концентрація іонів міді 50 мг/дм^3 (1), 75 мг/дм^3 (2), 100 мг/дм^3 (3) та 150 мг/дм^3 (4) [7].

складала $0.1\% / \text{хв.}$

Результати, наведені на рис. 5 є найбільш цікавими, оскільки зростання залишкової концентрації іонів міді відбувається антибатно зі зменшенням початкової концентрації іонів Cu^{2+} у розчині. Єдиним винятком є залежність для концентрації 150 мг/дм^3 , що очевидно просто не досягла адсорбційної рівноваги. Така поведінка свідчить про покращення сорбційних характеристик сорбенту за рахунок можливого проникнення молекул наномігнетиту усередину дріжджової клітини. Ймовірно, що при збільшенні початкової концентрації іонів міді в розчині їх залишкова концентрація зменшується завдяки більш щільній упаковці іонів міді на поверхні дріжджової клітини при пасивній сорбції. Також можна припустити, що приєднання наномігнетиту до дріжджів призводить до полегшення дифузії іонів міді до клітин і активації внутрішньоклітинних механізмів детоксикації.

Відмітимо також, що додавання суспензії наномігнетиту до біосорбенту призводить до певної стабілізації процесу біосорбції і зменшенню кількості змін процесу сорбції на десорбцію. При зростанні концентрації іонів міді у розчині додавання суспензії наномігнетиту сприяє більш швидкому досягненню адсорбційної рівноваги даною системою (час досягнення адсорбційної рівноваги зменшується від 40 до 20 хв.).

Із порівняння рисунків 2–5 видно, що характер сорбції іонів міді магнетоміченими дріжджами із вмістом 2, 4 та 6% об. наномігне-

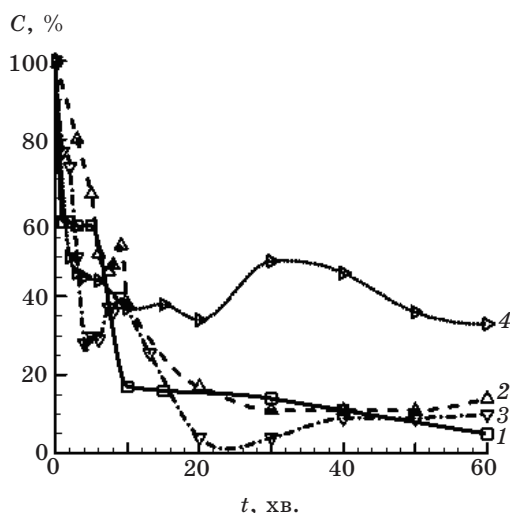


Рис. 5. Залежність величини залишкової концентрації йонів Cu^{2+} від часу для біосорбенту із 8% об. наноманетиту. Початкова концентрація йонів міді 50 мг/дм^3 (1), 75 мг/дм^3 (2), 100 мг/дм^3 (3) та 150 мг/дм^3 (4) [7].

титу є подібним. При чому зі збільшенням концентрації наноманетиту від 2 до 6% об. зростає залишкова концентрація йонів міді у розчині, тобто погіршується вилучення йонів Cu^{2+} . Це може бути пов'язано із тим, що при виготовленні магнетокерованого біосорбенту наноманетит займає деякі сайти зв'язування на поверхні дріжджової клітини. Подальше збільшення кількості наноманетиту призводить до покращення вилучення (за винятком концентрації йонів Cu^{2+} 150 мг/дм^3). Можливо це свідчить про вплив наноманетиту на конформацію і склад білкових молекул цитоплазми та внутрішньоклітинних мембран. Зміна складу білкових молекул впливає на транспорт речовин у клітину, що і визначає процеси внутрішньоклітинного метаболізму.

Сорбція йонів відбувається ступеневу при періодичному встановленні адсорбційної рівноваги між процесами сорбції-десорбції. Це може свідчити про те, що початкова сорбція здійснюється поверхнею дріжджової клітини. Йони міді зв'язуються з функціональними групами у проміжках між молекулами наноманетиту. Потім встановлюється рівновага між процесами сорбції і десорбції та відбувається часткова десорбція йонів міді з поверхні дріжджової клітини. Наступний етап сорбції може здійснюватися шляхом зв'язування йонів міді з шаром попередньо сорбованих йонів Cu^{2+} , наноманетитом та дріжджовою поверхнею, що призводить до зменшення залишкової концентрації йонів у розчині.

Як правило, для досягнення адсорбційної рівноваги був потріб-

ним час, що не перевищував 1 години. Також відмітимо, що протягом 1,5 годин не спостерігалось зміщення рівноваги для оборотних реакцій пасивної сорбції, що свідчить про відносну стабільність утворених комплексів.

Виходячи з одержаних результатів, оптимальною концентрацією наномагнетиту, яка забезпечує максимальну кількість вилучених йонів Cu^{2+} та сприяє стабілізації сорбції, при приготуванні магнетоміченого біосорбенту є 8% об. наномагнетиту.

4. ВИСНОВКИ

В роботі було виконано дослідження процесу біосорбції йонів міді магнетокерованими дріжджами *S.cerevisiae*. Одержані результати свідчать про те, що для більшості випадків пасивна сорбція має ступневий характер, є достатньо швидкою (3–20 хв.) та характеризується встановленням адсорбційної рівноваги між процесами сорбції–десорбції. Активна біосорбція є більш тривала та характеризується незначним вбиранням йонів Cu^{2+} . Визначено, що додавання 8% об. наномагнетиту до складу біосорбенту є оптимальним і дозволяє вилучати відпрацьований магнетокерований біосорбент у швидкісному режимі за допомогою високоградієнтної магнетної сепарації.

ПОДЯКИ

Висловлюємо подяку С. В. Горобець за корисне обговорення роботи.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. G. D. Moeser, K. A. Roach, W. H. Green, and T. A. Hatton, *AIChE Journal*, **50**, No. 11: 2835 (2004).
2. I. Safarik, L. Ptackova, and M. Safarikova, *European Cells and Materials*, **3**, No. 2: 52 (2002).
3. S. V. Gorobets, O. Yu. Gorobets, T. P. Kasatkina et al., *JMMM*, **272–276**: 2413 (2004).
4. M. Patzak, P. Dostalek, R. V. Fogarty et al., *Biotechnology Techniques*, **11**, No. 7: 483 (1997).
5. R. Massart, *IEEE Transactions on Magnetics*, **17**, No. 2: 247 (1981).
6. R. Han, H. Li, Y. Li et al., *J. of Hazardous Materials*, **B137**: 1569 (2006).
7. S. V. Gorobets and M. V. Manilo, *Abstr. of International Conference 'PLMMP'* (Kyiv, Ukraine: 2010).
8. J. Wang and C. Chen, *Biotechnology Advances*, **24**, No. 5: 427 (2006).