

Dorota PAPCIAK
Justyna ZAMORSKA
Politechnika Rzeszowska

BIOSORPCJA KOBALTU Z ROZTWORÓW WODNYCH Z WYKORZYSTANIEM DROŹDŹY *Saccharomyces cerevisiae*

Praca zawiera wyniki badania procesu biosorpcji jonów kobaltu na żywych i martwych komórkach drożdży piekarnianych *Saccharomyces cerevisiae*. Badania przeprowadzono z stosowaniem szerokiego zakresu początkowego stężenia jonów kobaltu (1-500 mgCo/dm³), wartości odczynu pH (3-9) i temperatur (10-47°C). Rezultaty badań pozwoliły na stwierdzenie, że spośród badanych czynników jedynie stężenie początkowe metalu miało istotny wpływ na efektywność biosorpcji jonów kobaltu przez biomasę *Saccharomyces cerevisiae*. Efektywność rosła od 95 do 99,28% w przypadku martwych oraz od 81,10 do 99,34% w przypadku żywych mikroorganizmów, w badanym zakresie stężeń. Maksymalne usunięcie kobaltu wyniosło 496,4 mg Co/g s.m. dla martwych i 496,7 mg Co/g s.m. dla żywych komórek biosorbentu, przy początkowym stężeniu metalu wynoszącym 500 mgCo/dm³.

1. Wstęp

Wraz ze wzrostem uprzemysłowienia naturalne krążenie metali ciężkich w przyrodzie zostało zachwiane. Metale łatwo przechodzą różne przemiany chemiczne i biochemiczne, a w konsekwencji włączone zostają do łańcucha pokarmowego. Badania dowiodły, że to właśnie metale ciężkie są najbardziej znaczącą przyczyną zanieczyszczenia małych, miejskich cieków wodnych [7]. Możliwość występowania metali w różnej formie, na różnym stopniu utlenienia oraz w różnych związkach organicznych i nieorganicznych wpływa na ich toksyczność. Ze względu na ich łatwość łączenia ze związkami organicznymi szybko trafiają do łańcucha pokarmowego [2]. Właściwość ta może zostać wykorzystana do usuwania metali z roztworów wodnych z zastosowaniem naturalnych biosorbentów. Duże zainteresowanie procesem powoduje, że jest on tani, skuteczny i możliwy do prowadzenia na powszechnie dostępnych biosorbentach [6, 13].

Pomyślne rezultaty badań przeprowadzonych na wielu gatunkach mikroorganizmów: grzybów i bakterii [11], są bodźcem do podejmowania prób wyko-

rzystania innych materiałów odpadowych, np. łupin grochu, resztek jabłek, mielonych ziaren kawy, herbaty, łupin orzechów włoskich i ziemnych, łusek ryżu, orzecha kokosowego, odpadów z produkcji oleju z oliwek [1, 5, 12].

Drożdże piekarniane z rodzaju *Saccharomyces cerevisiae* są niedrogim biosorbentem, który badano już wielokrotnie, w celu ustalenia możliwości ich wykorzystania w procesie biosorpcji. Drożdże kumulują metale wewnątrz komórek, w postaci niskocząsteczkowych polifosforanów w wakuolach albo w postaci ziaren. Skuteczność *Saccharomyces cerevisiae* w usuwaniu różnych metali ciężkich z roztworów wodnych jest dowiedziona [4, 10, 13].

Przeprowadzone badania miały na celu optymalizację warunków biosorpcji kobaltu z roztworów wodnych na martwych i żywych komórkach *Saccharomyces cerevisiae*.

2. Metodyka badań

Biosorbent zastosowany do badań to popularne drożdże piekarniane, należące do gatunku *Saccharomyces cerevisiae*. Do badań nad wpływem żywych komórek na proces biosorpcji wykorzystywano drożdże o zawartości suchej masy 27,32%, przechowywane w lodówce w temperaturze 8°C. Do badań nad wpływem martwej biomasy drożdży na efektywność biosorpcji przygotowano drobną, rozpuszczalną frakcję pylistą, poprzez wysuszenie żywych kultur drożdży w temperaturze 105°C, a następnie rozdrobnienie w moździerzu.

W kolejnych seriach badano:

- efektywność procesu biosorpcji jonów kobaltu z zastosowaniem żywych i martwych komórek drożdży,
- wpływ stężenia jonów kobaltu na efektywność biosorpcji,
- wpływ pH na efektywność procesu,
- wpływ temperatury na efekt usuwania kobaltu.

W badaniach stosowano dawkę drożdży 1 g s.m./dm³ oraz stężenia kobaltu 1-500 mg Co/dm³. Zawartość kobaltu w próbkach wody oznaczano metodą Absorpcyjnej Spektrometrii Atomowej (ASA) na aparacie PERKIN ELMER 3100.

Roztwory robocze stosowane w badaniach nad wpływem pH na proces biosorpcji na żywych komórkach drożdży miały wyjściowe pH od 3 do 9. Wpływ temperatury badano przy 10, 22, 28, 37 i 47°C.

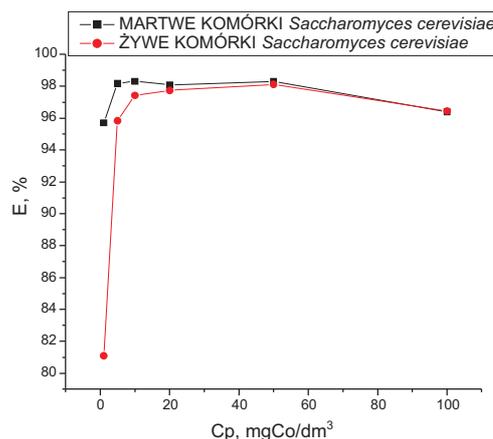
3. Omówienie i analiza wyników

Wpływ stężenia jonów kobaltu na efektywność procesu biosorpcji na martwych i żywych komórkach drożdży

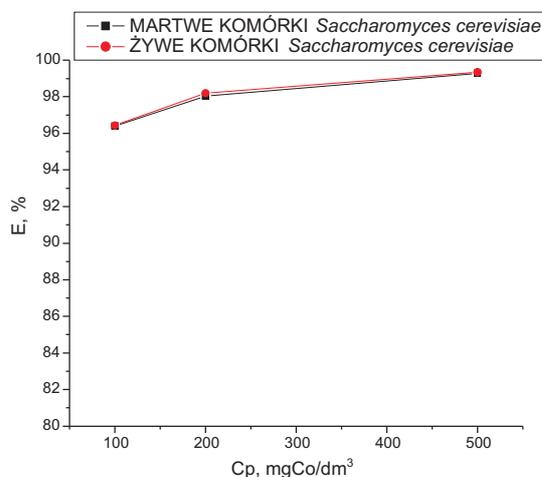
Analizując wpływ stężenia początkowego jonów kobaltu na efektywność biosorpcji z zastosowaniem martwych i żywych komórek drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, można stwierdzić, że efektywność biosorpcji jonów kobaltu rośnie wraz ze wzrostem stężenia początkowego tychże jonów w roztworach

wodnych. Zależność ta obserwowana jest zarówno w przypadku zastosowania martwych, jak i żywych *Saccharomyces cerevisiae* (rys. 1. i 2.). Największy procent usunięcia jonów kobaltu uzyskano przy największym zastosowanym stężeniu początkowym, równym 500 mg Co/dm^3 . Przy zastosowaniu żywych drożdży wynosiło ono 99,34%, a dla martwych 99,28%. Najmniejszą efektywność: 95,7% (martwa biomasa), 81,1% (żywe komórki), zanotowano przy najmniejszym stężeniu początkowym jonów kobaltu wynoszącym 1 mg/dm^3 . Przy stężeniach kobaltu $50\text{-}100 \text{ mg/dm}^3$ krzywe efektywności biosorpcji z zastosowaniem żywych i martwych komórek właściwie się pokrywają, różnica wynosi jedynie 0,04%. Dla stężenia kobaltu 1 mg/dm^3 różnica ta wynosi już 14,6%.

Rys. 1. Wpływ stężenia początkowego kobaltu na efektywność procesu biosorpcji jonów kobaltu (stężenia kobaltu: $1\text{-}100 \text{ mgCo/dm}^3$, dawka drożdży 1 g s.m./dm^3 ; martwe i żywe komórki drożdży – porównanie)

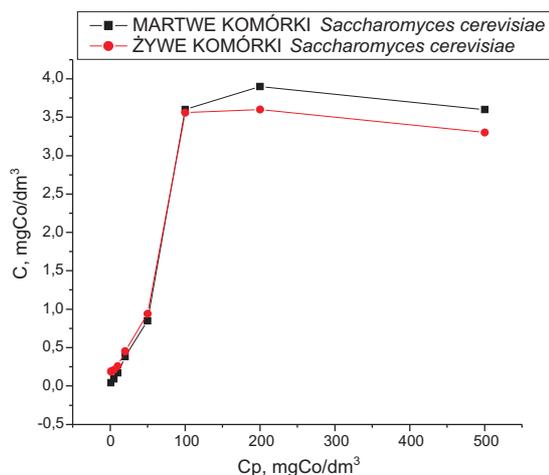


Rys. 2. Wpływ stężenia początkowego kobaltu na efektywność procesu biosorpcji jonów kobaltu (stężenia kobaltu: $100\text{-}500 \text{ mg Co/dm}^3$, dawka drożdży 1 g s.m./dm^3 ; martwe i żywe komórki drożdży – porównanie)



Wielkość stężenia równowagowego jonów kobaltu po procesie biosorpcji rośnie wraz ze wzrostem stężenia początkowego tych jonów. Do wartości stężenia

nia początkowego kobaltu 100 mg/dm^3 ich końcowa zawartość w roztworze zmienia się od $0,043$ do $1,8 \text{ mg Co/dm}^3$ dla martwej biomasy i od $0,189$ do $1,7 \text{ mg Co/dm}^3$ dla żywych komórek (rys. 3.). W zakresie stężeń początkowych kobaltu od 100 do 500 mg/dm^3 wartość stężenia równowagowego nie ulega znaczącym zmianom i waha się od $3,6$ do $3,9 \text{ mg Co/dm}^3$ w przypadku martwej biomasy oraz od $3,3$ do $3,6 \text{ mg Co/dm}^3$ dla żywych komórek. Można więc stwierdzić, że na efekt procesu biosorpcji jonów kobaltu z zastosowaniem drożdży *Saccharomyces cerevisiae* nie ma wpływu fakt, czy stosowany biosorbent zawiera żywe, czy martwe komórki. Mechanizm usuwania kobaltu przy tak krótkim czasie kontaktu organizmów z roztworem polega na jego wiązaniu w warstwie powierzchniowej biosorbenta i nie ma związku z metabolizmem komórki.



Rys. 3. Zależność stężenia równowagowego od stężenia początkowego kobaltu (stężenia kobaltu: $1\text{-}500 \text{ mg Co/dm}^3$, dawka drożdży 1 g s.m./dm^3 ; martwe i żywe komórki drożdży – porównanie)

Z literatury wynika, że w przypadku jonów innych metali, np. Pb^{2+} , większą skuteczność biosorpcji zaobserwowano przy zastosowaniu żywych komórek *Saccharomyces cerevisiae*, a proces biosorpcji podzielono na trzy etapy [6]:

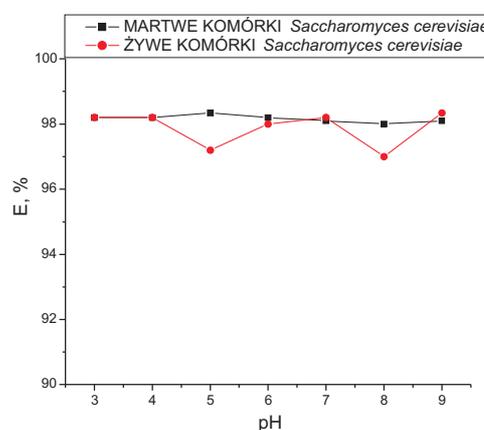
- pierwszy, trwający ok. 3-5 min (wiązanie metalu przez ściany komórkowe), niezależny od metabolizmu komórki,
- drugi, do 24 godz., zależny od metabolizmu komórki,
- trzeci, po 24 godz., częściowo zależny od metabolizmu komórki.

Jeśli przyjąć, że w przypadku jonów kobaltu proces biosorpcji na żywych komórkach *Saccharomyces cerevisiae* zachodzi również w trzech etapach, to można stwierdzić, że jony kobaltu wiązane były tylko przez ściany komórkowe, gdyż czas kontaktu wynoszący 15 min jest zbyt krótki, aby wystąpił drugi etap – zależny od metabolizmu komórki. Być może po upływie 24 godz. uzyskano by większy, a może nawet całkowity stopień usunięcia kobaltu. Na mechanizm biosorpcji ma również wpływ budowa ściany komórkowej biosorbenta. Park i Lee [8] stwierdzili, że drożdże *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 834) posia-

dadą bardziej gęstą warstwę mannanu i kumuluje ona większe ilości metalu w pierwszej godzinie niż ATCC 24858, która wykazuje zdolność kumulacji metalu w cytoplazmie po 24 godz.

Wpływ odczynu roztworu na efektywność usuwania jonów kobaltu przez żywe i martwe komórki drożdży

Wraz ze zmianami wartości odczynu pH roztworów roboczych w zakresie 3-9 obserwuje się niewielkie zmiany efektywności usuwania kobaltu zarówno na martwych, jak i żywych komórkach *Saccharomyces cerevisiae* (rys. 4.). Na wykresie widać, że największą efektywność biosorpcji jonów kobaltu (98,34%) na martwej biomacie *Saccharomyces cerevisiae* uzyskano przy pH = 5, na żywej zaś przy pH = 9 – wynosiła ona 98,34%. W badanym zakresie pH różnice w efektywności były niewielkie – maks. 0,34% dla martwej biomasy i 1,34% dla żywych mikroorganizmów. Można więc stwierdzić, że w przebiegu procesu usuwania kobaltu na *Saccharomyces cerevisiae* wartość odczynu nie odgrywa większej roli. Jest to zjawisko dość rzadkie, gdyż zazwyczaj efektywność procesu biosorpcji jest ściśle uzależniona od wartości pH roztworu wodnego.



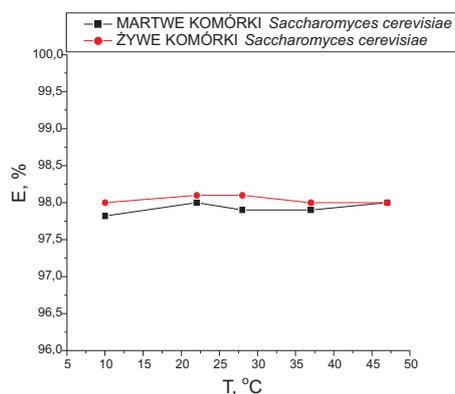
Rys. 4. Wpływ odczynu pH na efektywność procesu biosorpcji jonów kobaltu (stężenie kobaltu: 50 mg Co/dm³, dawka drożdży 1g s.m./dm³; martwe i żywe komórki drożdży – porównanie)

Jak wykazały badania przeprowadzone przez Parka w warunkach badań biosorpcji kadmu przez komórki drożdży *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 834 oraz ATCC 24858), odczyn pH ma istotny wpływ na efekt procesu. W odczynie zasadowym ilość usuwanego kadmu szybko rosła wraz ze wzrostem pH, osiągając najwyższą skuteczność przy pH = 10 (kadm wytrąca się w postaci wodorotlenku). Przy najwyższym odczynie uzyskano około pięciokrotnie większy stopień usunięcia kadmu w stosunku do pH = 7. W odczynie kwaśnym, zwłaszcza przy pH = 4,5, zdolność pochłaniania kadmu przez komórki drożdży była znacznie niższa w porównaniu do środowiska alkalicznego [8]. Hadi i in. [4], badając wpływ odczynu pH na efektywność biosorpcji jonów kadmu przez *Saccharomyces cerevisiae*, wykazali, że największy stopień usuwania tych jonów otrzymuje

się przy pH = 5. Z kolei Suh i in. [10] badali wpływ pH na efektywność biosorpcji jonów ołowiu na drożdżach piekarnianych – najczęściej ołowiu zostało usunięte z roztworu o odczynie pH = 4-5. Inne źródła [3] podają, że optymalne pH do usuwania kadmu przez te drożdże to pH = 6, do usuwania ołowiu zaś pH = 5.

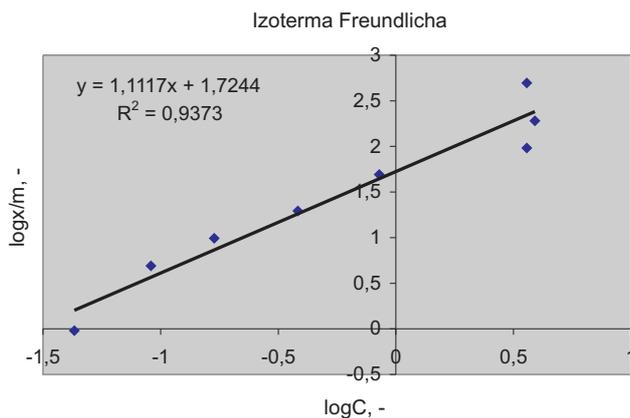
Wpływ temperatury na efektywność usuwania jonów kobaltu przez żywe i martwe komórki drożdży

Badania wpływu temperatury na skuteczność usuwania jonów kobaltu z zastosowaniem drożdży *Saccharomyces cerevisiae* wykazały, że jest on niewielki (rys. 5.). Wahania efektywności procesu w temperaturach od 10 do 47°C wynosiły: 97,82-98% dla martwej biomasy i 98-98,1% dla żywych mikroorganizmów.

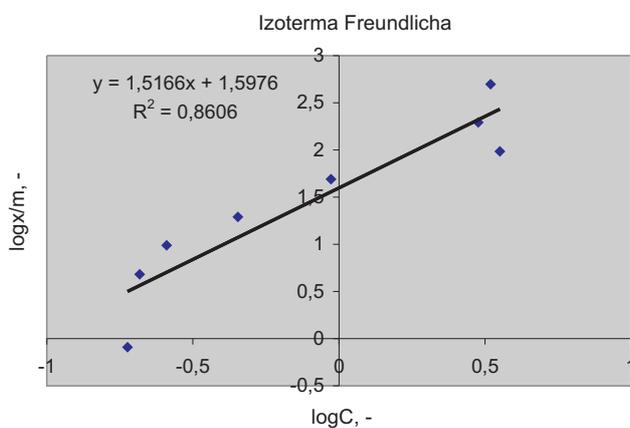


Rys. 5. Wpływ temperatury roztworu na efektywność procesu biosorpcji jonów kobaltu (stężenie kobaltu: 50 mg Co/dm³, dawka drożdży 1g s.m./dm³, martwe i żywe komórki drożdży – porównanie)

Z badań przeprowadzonych przez Parka na gatunkach drożdży z rodzaju *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 834 i ATCC 24858) wynika, że wzrost temperatury w zakresie 5-55°C powodował duży wzrost efektywności usuwania kadmu. Biomasa drożdży w tamtym przypadku była martwa [8]. Badania dotyczące wpływu temperatury w zakresie od 10 do 47°C na efektywność biosorpcji jonów kobaltu przez żywe mikroorganizmy oraz martwą biomasę drożdży rodzaju *Saccharomyces cerevisiae* wykazują, że czynnik ten nie wpływa na proces. Parametry biosorpcji kobaltu wyznaczone na podstawie równań Freundlicha, Langmuira i BET (tab. 1. i 2.) charakteryzują przebieg biosorpcji kobaltu na żywych i martwych komórkach drożdży z rodzaju *Saccharomyces cerevisiae* [9]. Proces biosorpcji na martwych i żywych komórkach drożdży najlepiej opisuje izoterma Freundlicha (rys. 6. i 7.).



Rys.6. Izoterma Freundlicha (forma liniowa) – przebieg procesu biosorpcji kobaltu na martwej biomacie drożdży *Saccharomyces cerevisiae* (zakres stężeń: 1-500 mg/dm³, dawka biosorbentu: 1 g s.m./dm³)



Rys. 7. Izoterma Freundlicha (forma liniowa) – przebieg procesu biosorpcji kobaltu na żywej biomacie drożdży *Saccharomyces cerevisiae* (zakres stężeń: 1-500 mg/dm³, dawka biosorbentu: 1 g s.m./dm³)

4. Wnioski

- Efektywność procesu biosorpcji jonów kobaltu na martwych i żywych komórkach drożdży z rodzaju *Saccharomyces cerevisiae* rośnie wraz ze wzrostem stężenia początkowego metalu w przedziale 1-500 mg Co/dm³.
- Czas kontaktu biosorbentu z zanieczyszczonym roztworem wynoszący 15 min pozwala na usunięcie do 99,34% jonów kobaltu.

- Zarówno martwe, jak i żywe komórki drożdży z rodzaju *Saccharomyces cerevisiae* wykazują dużą zdolność do biosorpcji jonów kobaltu z roztworów wodnych. W zależności od stopnia zanieczyszczenia roztworu kobaltem można stosować martwe lub żywe komórki badanych drożdży. Dla stężeń w zakresie 1-50 mg Co/dm³ skuteczniejsza jest martwa biomasa drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, przy stężeniach 50-100 mg Co/dm³ nie widać dużej różnicy, a dla zakresu 100-500 mg Co/dm³ metal jest lepiej usuwany przez żywe mikroorganizmy.
- Odczyn w zakresie pH od 3 do 9 nie wpływa znacząco na efektywność procesu biosorpcji kobaltu, aczkolwiek zaobserwowano, że optymalny odczyn do usuwania jonów kobaltu wynosi 5-6.
- Temperatura w zakresie 10-47°C nie ma istotnego wpływu na skuteczność usuwania jonów kobaltu przez martwe i żywe komórki drożdży.
- Proces biosorpcji na martwych i żywych komórkach drożdży najlepiej opisuje izoterma Freundlicha.

Literatura

1. Basci N., Kocadagistan E., Kocadagistan B.: *Biosorption of copper(II) from aqueous solution by wheat shell*. Desalination, no. 164, 2004, 135-140.
2. Davis A.T., Volesky B., Alfonso M.: *A review of the biochemistry of heavy metals biosorption by brown algae*. Water Research, no. 37, 2003, 4311-4330.
3. Göksungur Y., Üren S., Güvenç U.: *Biosorption of cadmium and lead ions by ethanol treated waste baker's yeast biomass*. Bioresource Technology, no. 96, 2005, 103-109.
4. Hadi B., Margaritis A., Berruti F.: *Kinetics and Equilibrium of Cadmium Biosorption by Yeast Cells S. cerevisiae and K. fragilis*. International Journal of Chemical Reactor Engineering, no. 1, 2003, pp. 1-18.
5. Hashim M.A., Chu K.: *Biosorption of Cadmium by Brown, Green and Red Seaweeds*. Chemical Engineering Journal, vol. 97, no. 2-3, 2004, pp. 249-255.
6. Klimiuk E., Łebkowska M.: *Biotechnologia w ochronie środowiska*. PWN, Warszawa 2003.
7. Kowal A.L., Świdarska-Bróz M.: *Oczyszczanie wody*. PWN, Warszawa-Wrocław 2000.
8. Park J.K., Lee J.W., Jung J.Y.: *Cadmium uptake capacity of two strains of Saccharomyces cerevisia*. Enzyme and Microbiology Technology, no. 33, 2003, pp. 371-378.
9. Sag Y., Kaya A., Kutsal T.: *Lead, copper and zinc biosorption from biocomponent systems modeled by empirical Freundlich isotherm*. Applied Microbiology and Biotechnology, vol. 53, no. 3, 2000, pp. 338-341.
10. Suh J.H., Yan J.W., Kim D.S.: *Effect of pH on Pb²⁺ accumulation in Sacharomysec cerevisiae and Aureobasidi pullulans*. Bioprocess Engineering, no. 20, 1999, pp. 471-474.

11. Vecchio A., Finoli C., Simone D., Andreoni V.: *Conference contribution: Heavy metal biosorption by bacterial cell*. *Frasenius Journal of Analytical Chemistry*, vol. 361, no. 4, 1998, s. 338-342.
12. Volesky B., Niu H.: *Characteristic of anionic metal species biosorption with waste crab shells*. *Hydrometallurgy*, no. 71, 2003, s. 209-215.
13. Wojnowska-Baryła I., Klimiuk E.: *Zastosowanie biosorbentów w procesach usuwania metali z roztworów wodnych*. *Biotechnologia*, 4(39)97, pp. 103-111.

BIOSORPTION OF COBALT FROM AQUEOUS SOLUTION BY SACCHAROMYCES CEREVISIAE

Summary

In this paper biosorption of cobalt ions by using live and dead cells of the baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae* was investigated. A comparison with results reported in the literature was made. The biosorption of cobalt ions on both live and dead cells of *Saccharomyces cerevisiae* was studied in the initial ions concentration range of 1-500 mg Co/dm³, pH values of 3-9 and temperatures in the range 10-47°C. Results indicated that cobalt ion uptake of *Saccharomyces cerevisiae* were significantly affected by initial metal ion concentration. The efficiency of process increased from 95 to 99,28% (dead biomass of *S.c.*) and from 81,10 to 99,34% (live cells of *S.c.*). The maximum cobalt ions removal of *Saccharomyces cerevisiae* were: 496,4 mg Co/g d.m. for dead, and 496,7 mg Co/g d.m. for live biosorbent cells in initial cobalt concentration 500 mg Co/dm³.

Złożono w Oficynie Wydawniczej w czerwcu 2009 r.