

Равновесие при биосорбция на йони на тежки метали от *Trichosporon cutaneum* R57

Невена Лазарова, Димитър Пешев, Нели Георгиева

Equilibrium studies on heavy metal biosorption by *Trichosporon cutaneum* R57 – free and immobilized cells: Pollution of air, water and soil with hazardous and toxic chemicals pose a high risk to living organisms, both directly and indirectly. The use of biological systems in the role of sorbents is widely spread in recent decades. Information on the adsorption capacity is needed for selection of suitable biomass as well as for optimal process handling. Obtaining adequate models that enable design at industrial scale is another subject which has to be further developed.

Key words: Biosorption, Heavy Metals, *Trichosporon cutaneum* R57, Brunauer–Emmett–Teller analysis.

ВЪВЕДЕНИЕ

Моделирането и симулирането на биосорбционни процеси целят анализ на опитни данни, изясняване механизма на процесите, предвиждане на отговора при промяна в работните условия и оптимизиране на процесите. За описание на равновесието се използват изотерми, изведени по теоретичен път за опростени небιологични системи. Brunauer–Emmett–Teller (BET) изотермата отчита възможността за многослойна адсорбция и във вида и, показан в ур. (1), е намерила приложение и в биотехнологиите [1,2]:

$$q_{eq} = q_m \frac{K_S C_{eq} [1 - (n+1)(K_L C_{eq})^n + n(K_L C_{eq})^{n+1}]}{(1 - K_L C_{eq}) [1 + (\frac{K_S}{K_L} - 1)K_L C_{eq} - (\frac{K_S}{K_L})(K_L C_{eq})^{n+1}]} \quad (1)$$

При $n = \infty$, където n е броя на адсорбционните слоеве:

$$q_{eq} = q_m \frac{K_S C_{eq}}{(1 - K_L C_{eq})(1 - K_L C_{eq} + K_S C_{eq})} \quad (2)$$

Равновесният параметър q_{eq} е характеристика за сорбционния капацитет (т.е. ефективността) на биосорбента (mg/g), q_m – количеството на адсорбираното вещество, отговарящо на запълнен монослой (mg/g), K_S е равновесната константа на адсорбция за първия слой в изотермите на Langmuir и BET (mg/L)⁻¹, а K_L равновесната константа на адсорбция за следващите слоеве в BET изотермата, (mg/L)⁻¹ (ур. (1) и (2)) [3]. Уравнението има теоретична основа и дава информация за броя на слоевете при многослойна адсорбция, адсорбционния капацитет и концентрациите, при които се формират съответните слоеве. Поради това, BET моделът намира широко приложение при определяне на специфичната повърхност, порьозността и разпределението на порите по размер за адсорбенти и катализатори.

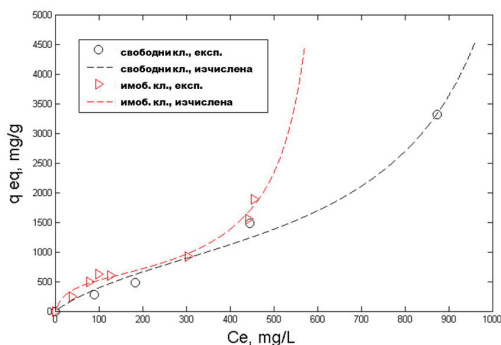
МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Използван е дрождеви щам *Trichosporon cutaneum* R57 при условия на периодично култивиране [4]. На 24^{-ра} час от началото на култивиране на щамата се добавят разтвори на металните йони. Използвани са следните разтвори на метални йони в концентрации от 0 до: 10 mM K₂Cr₂O₇; 6 mM 3CdSO₄.8H₂O; 2 mM CuSO₄.5H₂O. Изменението в концентрацията на йоните и времето за вземане на проби е съобразено с предходни изследвания [4]. Определянето на метални йони е извършено чрез оптико-емисионна спектроскопия с индуктивно свързана плазма (ICP-OES Leeman Labs). Пробите предварително се центрофугират при 8000 оборота за 10 min за разделяне на течната и твърдата фаза. Експериментите относно биосорбцията на йони на тежки метали са осъществени при интензивно разбъркване с цел да се елиминира влиянието на външната дифузия. Експерименталните данни за остатъчната концентрация на йони в течната среда в даден момент след началото на процеса, могат да бъдат представени като

концентрация на йони в биосорбента (mg Me/g биосорбент) $q = V \cdot (C_0 - C) / m$. В уравнението q е количество йони адсорбирани от единица маса биосорбент (mg/g) за време t (min); V е обема на течната фаза (L); C е концентрацията на метални йони в течната фаза, mg/L; C_0 е началната концентрацията на метални йони в течната фаза, mg/L; m е маса на биосорбента (g). Използвани са опитни данни за равновесието $q_{eq} = f(C_e)$, за да се определят параметрите на BET равновесния модел (виж уравнение 1) за течна фаза за всеки тип проба. Нелинейната регресия е осъществена с Curve Fitting Toolbox в средата на MatLab. Използван е NonLinear Least Squares метод и Trust Region алгоритъм. Точността на статистическия анализ е определена въз основа на коефициента на нелинейна регресия R^2 (R-square) [5]. Стойността на R^2 може да бъде в диапазона от 0 до 1. Стойности близки до 1 показват по-голяма точност на описание.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

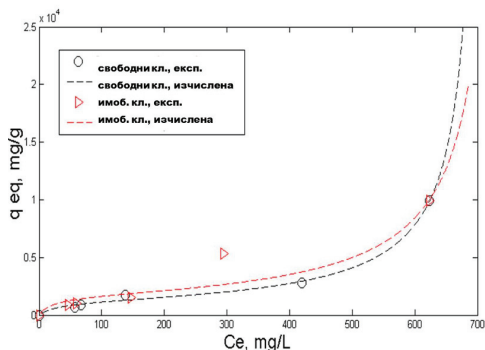
Проведени са експерименти с цел сравнение на сорбцията на метални йони от клетки на изследвания шам – *Tr. cutaneum* R57 в свободно и имобилизирано състояние. Проведени са изследвания с концентрации на металните йони, аналогични на тези при свободни клетки. За всички построени изотерми, R^2 е по-висок или равен на 0.9. На Фиг. 1 е направена съпоставка между изотермата на свободни и имобилизирани клетки при добавяне на различни концентрации от стандартния разтвор на хроматни йони.



Фиг. 1 Изотерми на свободни и имобилизирани клетки на шам R57 в присъствие на нарастващи концентрации 0.2 – 10 mM Cr^{6+} (20.8 - 1000 mg/L)

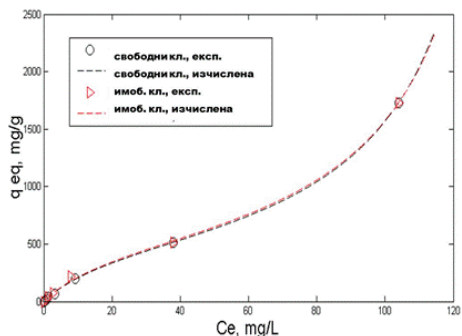
Може да се отбележи, че адсорбционния капацитет при дадена концентрация на йоните в течната фаза е по-висок при имобилизираните клетки, тази тенденция се забелязва и при сорбцията на кадмиеви йони. Причина за това може да е от една страна наличието на допълнителни функционални групи по повърхността на хибридните материали и тяхната порьозност [6], а от друга стабилността, която придобиват клетките във формираната се биофилм [7]. Тенденция за по-висок сорбционен капацитет на имобилизирани клетки в сравнение със свободни е наблюдавана и в предишни изследвания [8-11]. При сорбцията на Cu, Cd и Pb съответно от *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.* и *Micrococcus sp.*, авторите обясняват това явление с по-голямата стабилност, която имат имобилизираните клетки, спрямо свободната биомаса [8]. Други учени наблюдават по-високи нива на q_{eq} за свободни клетки, такива резултати са получени при изследване сорбцията на йони на никел с използването на гъби *Rhizopus arrhizus*. Изследователският екип обяснява резултатите си с неподходящ избор на материал за имобилизиране [12]. На Фиг. 2 са представени равновесните изотерми, построени при сорбция на кадмиеви йони.

Тендецията и тук е за по-висок сорбционен капацитет при имобилизираните клетки в сравнение със свободните. Разликата при съпоставката на тези две изотерми не е така ясно изразена както е при изследване равновесието с хроматни йони (Фиг. 2).



Фиг. 2 Изотерми на свободни и имобилизирани клетки на щам R57 в присъствие на нарастващи концентрации 0.2 – 6.0 mM Cd^{2+} йони (22.4 – 700.0 mg/L)

На Фиг. 3 са представени изотермите при адсорбция на медни йони за свободни и имобилизирани клетки.



Фиг. 3 Изотерми на свободни и имобилизирани клетки на щам R57 в присъствие на нарастващи концентрации 0.025 – 2.0 mM Cu^{2+} йони (1.59 – 120.0 mg/L)

Може да се отбележи, че за разлика от изотермите в присъствие на хроматни и кадмиеви йони, тук двете изотерми съвпадат. Обяснение за това могат да бъдат отново от една страна по-ниските концентрации на медни йони в сравнение с хроматните и кадмиевите, а от друга по-висок афинитет на биомасата спрямо медните йони в сравнение с този между хибридният носител и йоните на медта.

В Табл. 1 са обобщени стойностите за q_{eq} и параметрите в равновесните модели за имобилизирани клетки *Tr. cutaneum* R57 върху матрици с органичен компонент НРС и свободни клетки. От представените резултати в Табл. 1 се вижда, че при ниска начална концентрация на Cr^{6+} (0.2 mM) адсорбционния капацитет q_{eq} на биосорбента е приблизително три пъти по-висок при имобилизираните клетки в сравнение с тези в свободно състояние. Обяснението на това явление би могло да бъде въвеждането на допълнителни адсорбционни центрове в матрицата чрез функционални групи на НРС. В допълнение е и вероятността, имобилизирането да намалява инхибиращия ефект на Cr^{6+} . Имобилизацията към $\text{SiO}_2/\text{НРС}$ хибридни материали води до по-висок адсорбционен капацитет q_{eq} .

Таблица 1. Стойности за адсорбционния капацитет на Cr^{6+} , Cd^{2+} и Cu^{2+} при имобилизирани и свободни клетки и за параметрите в равновесните модели (q_m , K_s и K_L в ур. (2))

Вид йони	C_e , mg/L	Имобилизирани клетки		Свободни клетки	
		q_{eq} , mg/g	Коефициенти	q_{eq} , mg/g	Коефициенти
Cr^{6+}	20.8	243.7	$q_m = 542.6$ $K_s = 0.03661$ $K_L = 0.001541$	81.83	$q_m = 1000$ $K_s = 0.005152$ $K_L = 0.0008218$
	62.4	430.9		235.0	
	104	529.4		371.9	
	156	630.6		528.1	
	520	2.7028×10^3		1529.0	
Cd^{2+}	22.4	878.8	$q_m = 1681$ $K_s = 0.04374$ $K_L = 0.001336$	531.6	$q_m = 1242$ $K_s = 0.03016$ $K_L = 0.001404$
	89.6	1559.0		1073.0	
	112	1687.0		1181.0	
	560	6619.0		5748.0	
Cu^{2+}	1.588	42.16	$q_m = 530.5$ $K_s = 0.05449$ $K_L = 0.00681$	40.82	$q_m = 515.6$ $K_s = 0.05449$ $K_L = 0.006884$
	3.176	83.22		80.24	
	30.176	451.2		435.7	
	63.5	804.2		783.0	

С увеличение на концентрацията на хроматните йони се забелязва, че разликата в адсорбционния капацитет намалява пропорционално с увеличение на концентрацията на йоните на тежкия метал. Вероятно, адсорбционните центрове от матрицата се насищат при ниски концентрации на метала, след което извличането се дължи изцяло на биосорбцията. С увеличаване на концентрацията, респективно абсолютното количество на адсорбираните йони, относителния дял на адсорбцията върху матрицата намалява. Трябва да се отбележи, че и в двете опитни постановки има нарастване на адсорбционния капацитет с увеличение концентрацията на йоните на тежкия метал. От данните в Табл. 1 за сорбцията на кадмиеви йони може да се забележи сходна тенденция на тази при хроматни йони. Тук обаче няма толкова ясна изразена разлика при най-ниската стойност от 22,4 mg/L с последващите стойности както е в случая при извличането на хроматни йони. Данните описващи сорбцията на медни йони (Табл. 1) се отличават от тези на хроматни и кадмиеви йони. Разликата в сорбционния капацитет на имобилизирани и свободни клетки е незначителна. Няма особена разлика и при повишение на концентрацията на медните йони. Разликата при различните концентрации е в сходен диапазон. Сходство с предходните данни за хром и кадмий има в тенденцията за увеличение на q_{eq} с повишение на концентрацията на добавените медни йони. При сравнение на q_{eq} както на имобилизирани, така и на свободни клетки при концентрация на йоните на тежките метали в интервала 20-30 mg/L може да се направи извода, че щамът има най-висок сорбционен капацитет спрямо йоните на тежкия метал кадмий, следван от медните и хроматните йони. Очевидно имобилизирането на клетките чрез прикрепване към повърхността на използваните хибридни материали предотвратява инхибирането им под въздействието на металните йони и следователно увеличава техния потенциал за приложение при пречистване на води, замърсени с Cr^{6+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} . Този ефект е по-добре изразен при по-високи концентрации на металните йони в средата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Опитно е изследвано равновесието при сорбция на трите тежки метала от свободни и имобилизирани клетки и чрез нелинейна регресия са изведени съответните коефициенти в BET изотермите, q_m , K_s и K_L . Последните могат да бъдат

използвани за целите на проектирането при биосорбция на метални йони. Въз основа на получените изотерми е определен сорбционният капацитет (q_{eq}) на свободни и имобилизирани клетки. При сравнение на q_{eq} при концентрации в интервала от 20 до 30 mg/L йони на съответните метали може да се направи извода, че щамът има сорбционен капацитет, нарастващ в следния ред: $Cr^{6+} - Cu^{2+} - Cd^{2+}$.

ЛИТЕРАТУРА

[1] Gadd, G. M., & de Rome, L. Biosorption of copper by fungal melanin. *Applied microbiology and biotechnology*, 1998, 29(6), 610-617.

[2] Gadd, G. M. Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2009, 84(1), 13-28.

[3] Ebadi, A., Mohammadzadeh, J. S. S., & Khudiev, A. What is the correct form of BET isotherm for modeling liquid phase adsorption?. *Adsorption*, 2009, 15(1), 65-73.

[4] Georgieva, N., Rangelova, N., Peshev, D., & Nenkova, S. Novel pectin-silica hybrids used for immobilization of *Trichosporon cutaneum* cells efficient in removal of Cadmium and Copper ions from waste water, *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences*, 2011, vol: 89, Pages: 318-327.

[5] MATLAB and Statistics Toolbox Release, 2012, The MathWorks, Inc., Natick, Massachusetts, United States

[6] Angelova, T., Rangelova, N., Yuryev, R., Georgieva, N., & Müller, R. Antibacterial activity of SiO₂/hydroxypropyl cellulose hybrid materials containing silver nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C*, 2012, 32(5), 1241-1246.

[7] Sutherland, I. Exopolysaccharides in biofilms, flocs and related structures. *Water Science & Technology*, 2001, 43(6), 77-86.

[8] Rani, M. J., Hemambika, B., Hemapriya, J., & Kannan, V. R. Comparative assessment of heavy metal removal by immobilized and dead bacterial cells: A biosorption approach. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 2010, 4(2).

[9] Hemambika, B., Rani, M. J., & Kannan, V. R. Biosorption of heavy metals by immobilized and dead fungal cells: A comparative assessment. *Journal of Ecology and the Natural Environment*, 2011, 3(5), 168-175.

[10] Liu, Y., Gan, L., Chen, Z., Megharaj, M., & Naidu, R. Removal of nitrate using *Paracoccus* sp. YF1 immobilized on bamboo carbon. *Journal of hazardous materials*, 2012, 229, 419-425.

[11] Ahemad, M., & Kibret, M. Recent trends in microbial biosorption of heavy metals: a review. *Biochemistry and Molecular Biology*, 2013, 1(1), 19-26.

[12] Gurel, L., senturk I, Bahadir T, Buyukgungor H. Treatment of Nickel Plating Industrial Wastewater by Fungus Immobilized onto Rice Bran. *J Microbial Biochem Technol*, 2010, 2, 34-37.

За контакти:

Инж. Лазарова, Катедра "Биотехнология", Химикотехнологичен и Металургичен Университет, тел.: (02) 8163 314, e-mail: n.a.lazarova@gmail.com

Докладът е рецензиран