بررسی میزان جذب آنتیموان (III) و آنتیموان(V) توسط فارچ تجاری ساکارومایسز سرویزیه در محیط آبی با کمک دستگاه ICP-AES

حسین عطار
گروه شیمی، دانشکده علوم، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
دانشکده شیمی پلیمر و مواد، دانشگاه لوئی پاستور، استراسبورگ، فرانسه
راشل فلیژر و فلورانس لگرد
دانشکده شیمی پلیمر و مواد، دانشگاه لویی پاستور، استراسبورگ، فرانسه
کریم زارع
دانشکده شیمی پلیمر و مواد، دانشگاه لویی پاستور،استراسبورگ، فرانسه
گروه شیمی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم وتحقیقات، تهران، ایران

چکیده

استفاده از مواد بیولوژیک در جذب (biosorbtion) گونه‌های مختلف فلزات سنگین به منظور گونه یابی آنان در شیمی آنالیز مطرح می‌باشد.

در این تحقیق از قارچ تجارتی Saccharomyces cerevisiae (FALA) که یک قارچ غیرسمی، ارزان و به سهولت قابل دسترسی در فروشگاه‌ها می‌باشد، برای یافتن بهترین شرایط جذب آنتیموان (III) و همچنین آنتیموان (V) مورد استفاده قرار گرفته است.

آزمایش جذب در شرایط ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه توسط محلول حدود ۲/۵ ppm آنتیموان انجام شد. حداکثر جذب Sb III در pH ۳، (۳ ± ۹۰ درصد) و حداقل جذب در pH۱۰، ۴ ± ۲۰ درصد است. جذب Sb (V) در pH ۱۰، ۳ ± ۵ درصد و در pH ۳ حدود ۴ ± ۳۵

درصد می‌باشد. متوسط جذب در pH۷ برای Sb III ۳±۸۰ و برای Sb V ۲ ± ۲۰ است. آنالیز به‌وسیلهٔ دستگاه ICP-AES انجام شد.

واژه‌های کلیدی: قارچ ساکارومایسز سرویزیه، آنتیموان ۳، آنتیموان ۵،ICP-AES ،جذب،biosorotion

مقدمه

مطالعات چرخه فلزات کمیاب در محیط زیست به متدهای حساس و دقیق نیاز داشته تا بدین وسیله بتوان میزان این فلزات را با توجه به گونه‌های (species) مختلفی که دارند به‌دست آورد. میزان گزارش شده به روش‌های آنالیز و دستگاه‌های استفاده شده بستگی دارد.

در مطالعات اخیر استفاده از میکرواورگانیسم‌ها (قارچ‌ها، باکتری‌ها وجلبک‌ها) درآنالیز دستگاهی مدنظر قرار گرفته است. مزیت‌های این روش عبارتند از :

الف)اقتصادی بودن

ب)استفاده از اکوسیستم طبیعی

با وجود کوچکی، این سلول‌ها دارای مکان‌هایی برای اتصال فلزات بوده که در این مکان‌ها گروه‌های عاملی شامل آمین‌ها، کربونیل، سولفیدریل و پکتین غیر متیله موجب اتصال می‌گردند. تفاوت‌های گروه‌ها باعث می‌شود که میکروارگانیسم‌ها بتوانند در شرایط مختلف به صورت انتخابی در *Biosorption* مورد استفاده قرار گیرند.

در این مطالعه قارچ Saccharomyces cerevisiae مورد استفاده قرار گرفته است. این قارچ به دلیل غیرسمی بودن و قیمت مناسب می‌تواند به‌راحتی بسیار مورد استفاده قرار گیرد. برخلاف بسیاری از میکروارگانیسم‌ها این قارچ در شرایط pH و دمای متفاوت (pH بین ۲ و ۹ و دمای فیمابین ۵تا ۳۵ سانتیگراد) زنده می‌ماند [۱].

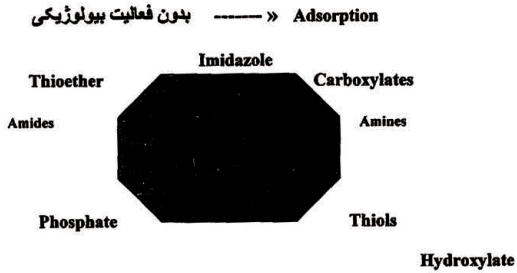
مطالعات انجام شده بر روی این قارچ شامل جذب و جداسازی کروم، جیوه، سلنیوم و ارسنیک می‌باشد. از طرف دیگر مقالاتی بسیار محدود در رابطه با تثبیت آنان بر روی سیلیکاژل در جداسازی منتشر شده است.

در مطالعه اخیر قارچ S.c جهت جذب آنتیموان (III) و (V) در شرایط pHهای مختلف تغییرات دما و مقدار قارچ برای یافتن شرایط مناسب جذب استفاده شده است.

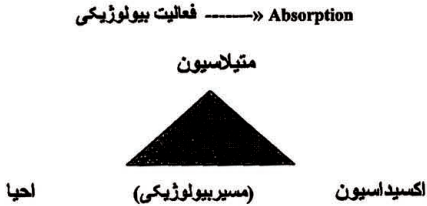
۱- جذب فلزات توسط میکرواورگانیسم‌ها

لغت *Biosorption* برای توضیح جذب یون‌ها توسط توده میکروبی به‌کار می‌رود، مکانیسم‌های جذب پیچیده و به خوبی شناخته نشده است، این مساله به شرایط محیطی، نوع میکروارگانسیم و فلز

بستگی دارد. فلزات می‌توانند به وسیله میکروب‌های زنده یا مرده جذب و فعالیت متابولیکی معمولاً ضروری نیست [۲] بعضی معتقدند [۳] که Biosorption به معنی تجمع فعال بوده و لذا به متابولیسم یون توسط مواد بیولوژیکی بستگی دارد (شکل‌های ۲ و ۱)



شکل۱: مکانیسم و فعالیت‌های گروه‌های عاملی در Adsorption



شکل۲: مکانیسم و فعالیت‌های گروه‌های عاملی در absorption

وقتی سلول‌های میکروبی در معرض یون‌های فلزی قرار می‌گیرند، در ابتدا به سرعت روی سطح سلولی بر روی محل‌های خاص جایگزین شده که شامل گروه‌های عاملی: آمین‌ها، کربوکسیلیک،تیول، فسفات و ... می‌باشد. میکروارگانیسم‌های متفاوت دارای گروه‌های متفاوت با فضاسازی مختلف می‌باشند. جذب اگر مستقل از متابولیسم باشد معمولاً pH بر روی آن مؤثر و تغییر دما (بین ۴ تا ۳۰) اثری بر آن ندارد [۲]

ورود کاتیون‌ها به سلول و عبور آنان از آن معمولاً دارای مسیر اختصاصی در کانال‌های غشا می‌باشند، لذا اگر دیگر یون‌ها دارای اندازه و بار یکسانی با آنان باشند، می‌توانند از این مسیرها عبور نمایند. همچنین برخی از فلزات سمی می‌توانند به‌وسیله سیستم‌های اختصاصی یون‌های فلزی از غشای سلولی گذشته و وارد سلول شوند.

مواد بیولوژیکی کاربرد زیادی در رفع آلودگی آب‌ها و فاضلاب‌های صنعتی دارند. بر روی جلبک‌ها مطالعات مختلفی از این نظر شده : Modrid و همکارانش ظرفیت Spirulina platensis را برای کروم و آنتیموان جذب شده در آب‌ها مورد بررسی قرار داده است [۵].

Yin و همکارانش جذب(adsorbtion) و جداشدن (desorbtion) کادمیوم (II) را بر روی Laminaria Japonica [۶]. Tam و همکارانش مطالعاتی بر روی جذب نیکل توسط دو گونه از Chlorella انجام داده‌اند [۷]. همچنین Veglio [۸]، sag [۹] و Cervantes [۱۰] بر روی جذب فلزات توسط مواد بیولوژی بحث و بررسی نموده‌اند.

مطالعات بر روی مواد بیولوژیک با هدف separation کم می‌باشد. این موضوع بر مبنای تفاوت سمیت و خواص شیمیایی گونه‌ها(species) می‌باشد. سمیت فلز به بارالکتریکی، والانس و عدد کئوردینانس که در متابولیسم سلول دخالت داشته بستگی دارد.

بیشتر مواقع در speciation (گونه یابی) به منظور فعالیت حیاتی سلول به زنده بودن آن نیاز داریم چون در این صورت متابولیسم و همچنین غشای سلولی که نقش در ورود فلزات دارند، عملیات خود را به انجام می‌رسانند.

البته این شرط ضروری نیست زیرا در برخی حالات گونه‌های فلزی به گروه‌های عاملی مستقر بر سطح غشای ملحق می‌گردند. در این رابطه Rohling [۱۱]، از گلبول‌های قرمز برای جداسازی کرومات در حضور کروم (III) Aller [۱۲] ظرفیت باکتری‌های Escherichia coli و Pseudomonas Putida در جذب انتخابی گونه‌های جیوه، Slaveykova [۱۳] و Taboada-de la calzada [۱۵ و ۱۴] بر روی جذب Pb^{2+} توسط Chlorella vulgaris مطالعه نموده‌اند.

۲- قارچ‌ها

۲-۱خصوصیات فیزیولوژیکی

قارچ‌ها با اندازه‌های ۵-۱۰ میکرومتر میکروارگانیسم‌های اوکاریوت تک سلولی می‌باشند. این موجودات تک سلولی مانند باکتری‌ها سطح سلولی آنها نمی‌تواند جایگاه‌هایی برای جذب فلزات داشته باشند. غشای سلولی آنان بیش از ۹۰٪ پلی ساکارید می‌باشد [۳]. در قارچ Saccharomyces cerevisiae این سطح از Mannose و Glucose ساخته شده است. که این هیدرولیز درpka نزدیک به ۱۰ انجام می‌شود. Glugane و Mannane دو پلی‌ساکارید homopolyoside می‌باشند (یعنی از یک نوع قند ساخته شده‌اند که به ترتیب عبارتند از D-گلوکز و D-مانوز) [۱۶]

۲-۲ تجمع (accumoulation) فلزات در قارچ Saccharomyces cerevisiae

بیشتر مطالعات بر روی شرایط مطلوب جذب طلا، اورانیوم، استرانسیوم و سزیوم بر روی S.c می‌باشد. این مطالعات بر روی pH، دما، دوره تماس و مقدار قارچ استفاده شده می‌باشد. خلاصه‌ای از شرایط در تابلو ۱ ذیل آمده است.

	نویسنده	شرایط قارچ	هدف	توضیحات
۱	Maquieria (۱۷)	تثبیت قارچ و کنترل روزنه‌های ماده ثبات	کاهش غلظت Pb,Zn,Cu,Cd (Preconcentration)	pH ۷/۵، ۶،یون فلز بر روی سطح سلول جایگزین می‌شود. pH ۲ جداسازی انجام می‌شود.
۲	Bag(۱۸)	تثبیت برروی Sepiolite	کاهش غلظت Cd Zn,Cu	pH مناسب برای Zn,Cd ۶ می‌باشد. pH مناسب برای Cu ۸می‌باشد. جداسازی در HCl ۱ مولار انجام می‌شود.
۳	Rome(۱۹)	تثبیت برروی آلژینات	جذب Sr,Cs U	در حضور گلوکز جذب بصورت حرکت پیرنها به داخل سلول انجام می‌شود. جداسازی(غیرکامل ۳-۱۸درصد در حضور اسیدهای معدنی ۱M انجام شود.

تابلو ۱: خلاصه‌ای از مقالات و چگونگی جذب فلزات بر روی S.c

قارچ S.c نه تنها توانایی جذب فلزات را دارد بلکه می‌تواند بین فلزات با اکسیداسیون و درجه سمیت مختلف تفاوت قائل شود. تابلو ۲ خلاصه‌ای از گزارش‌های علمی در این زمینه را ارائه داده است.

نویسنده	شرایط قارچ	گونه‌های جذب شده	گونه‌های جذب نشده	توضیحات
Preze-corona (۱)	آزاد و یا تثبیت شده برروی آلژینات	Cr(III)	Cr(VI)	جذب Cr(III) در pH ۱۳ جداسازی توسط HNO3 ۰/۳ مولار
Madrid(۲۰)	آزاد	MeHg+	Hg2+	شرایط مناسب :۳۰دقیقه در pH ۷ وصفر و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد
Prez-Corona (۲۱)	آزاد	Se(IV)	Se(VI)	pH اثری ندارد (بین ۳-۱۰) زمان تماس :۳۰دقیقه در ۳۷ درجه می‌باشد.

تابلو۲: جداسازی گونه‌های فلزی توسط Sacaromycese cerevisiae

Perez-corona بر روی جذب کروم (III) (در حضور کروم VI) در pH ۱۳ بر روی قارچ تثبیت شده در آلژینات و همچنین ماده جداساز اسید نیتریک، Madrid و همکارانش جداسازی MeHg و Hg^{2+} به‌وسیله S.c آزاد در pH، دما، زمان، مقدار قارچ و آنالیت‌های مختلف و همچنین حضور یون‌های دیگر مطالعه نموده‌اند.

(Porosite 0.45 m (what man))

La boucled injection loo l

۳-۳ روش آزمایش جذب

در یک لوله سانتریفوژ ۲۰۰ تا ۷۰۰ mg از قارچ تجارتی FALA را وزن کرده و µl ۵۰۰ از محلول آنتیموان (III) Sb، آنتیموان پتاسیم تارتارات $C_4H_4KO_7Sb\ 0.5H_2O$ ویا Sb (V)، پتاسیم پیرانتیمونات اسید $KSb(OH)_6$ با غلظت ppm ۲۰ به آن اضافه و سپس آب مقطر را اضافه و pH را اصلاح می‌کنیم. مخلوط را در حمام آب گرم در دمای مناسب (و یا دماهای دیگر) با همزن مغناطیسی در زمان‌های مختلف حداکثر تا یک ساعت قرار می‌دهیم. سپس محلول را سانتریفوژ و قارچ‌ها را کنار گذاشته، محلول به‌دست آمده را به‌وسیلهٔ دستگاه ICP-AES آنالیز می‌نماییم.

۴- بحث و نتیجه گیری

در این تحقیق به کمک قارچ تجارتی Saccharomyces cerevisiae که یک قارچ غیر سمی، ارزان و به سهولت قابل دسترسی در فروشگاه‌ها می‌باشد، تفاوت شرایط جذب آنتیموان با درجه اکسیداسیون ۳ از آنتیموان با درجه اکسیداسیون ۵ مورد بررسی قرار گرفت.

وزن قارچ مورد استفاده، pH ، دما و زمان جذب مورد بررسی قرار گرفت. جذب در شرایط ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه صورت گرفت. ۰/۵ میلی‌لیتر محلول ۲۰ ppm به ml ۳/۵ سوسپانسیون ۷۰۰ میلی گرم قارچ در آب مقطر برای اندازه گیری جذب اضافه شد.

حداکثر جذب Sb (III) در pH ۳ (۳ ± ۹۰درصد) و حداقل جذب در pH۱۰، ۴ ± ۲۰ درصد است. همچنین حداکثر جذب Sb (V) در pH ۱۰، (۳ ± ۵ درصد) و در pH ۳ حدود ۴ ± ۳۵ درصد می‌باشد. متوسط جذب در pH ۷ برای Sb (III) ۳±۸۰ و برای Sb (V) ۲ ± ۲۰ است. (منحنی ۱)

بنابراین با کمک این روش می‌توان نوع سمی‌تر آنتیموان Sb (III) را از نوع دیگر آن Sb (V) توسط تک سلولی غیر خطرناک (قارچ S.c) جدا نمود.

این موضوع در جداسازی گونه‌های مختلف آنتیموان (Speciation) و غلیظ‌سازی آن (preconcentration) کاربرد خواهد داشت.

perez-corona این مطالعات را بر روی قارچ‌های تثبیت شده در ژل انجام داده است که در این حالت جداسازی دو گونه از جیوه (یکی $MeHg^{+}$ بر روی قارچ و Hg^{2+} بر روی سیلیس) را گزارش نموده است.

۳-کارهای تجربی:

۳-۱ مواد

آنتیموان پتاسیم تارتارات H_2O ۰/۵ و $C_4H_4KO_7Sb$ (III)، پتاسیم پیروآنتیمونات اسید $KSb(V)(OH)_6$، YPD Agar ، قارچ تجارتی S.c با نام FALA

۳-۲ دستگاه‌ها

دستگاه ICP-AES و شرایط آزمایش:

مدل Jobin Yvon JY 138 Ultrace

λ =206.833 nm

debi gaz :

gaz plasmagene(argon) : 12 L/min

gaz gainage(argon) : 0.2 L/min

gaz nebulisation(argon) : 0.3-0.35 L/min

gaz balayage(argon) : 3 L/min

speciation فیمابین Sb (III) و Sb (V) توسط اتصال دستگاه *HPLC* و *ICP-AES* اندازه گیری می‌شود.

C olonne : Hailtion PRPX100 250*406mm

d.p : lo m

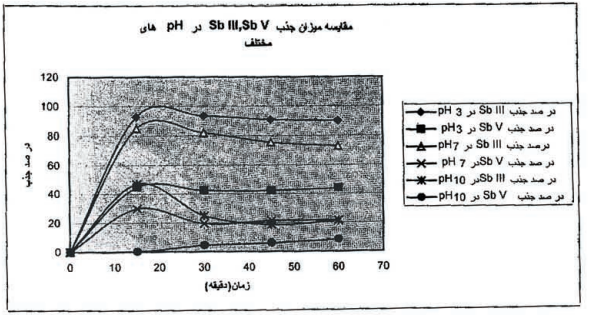
نام ماده پرکننده : پلی استرن دی وینیل بنزن

(Debi : lml/min (pompe : Lc-loAT shimatzu))

D.T.A lomM.Eluant : E

Tampon actate PH 5,2,5

Filter : cellulos denitrate 47mm



منحنی ۱: اثرات زمان بر جذب آنتیموان III و V در pH های مختلف

منحنی ۲ و ۳ میزان جذب را درشرایط مختلف برای Sb (III) و Sb (V) نشان می‌دهد. چنانچه ملاحظه می گردد قارچ S.c بیشترین میزان جذب را در pH۳ و کمترین جذب را در pH ۱۰ دارد. بنابراین افزایش pH اثر عکس در میزان جذب دارد.

همچنین بررسی‌ها نشان داد که افزایش وزن قارچ حداکثر تا ۷۰۰ میلی گرم در ml ۴ محلول آنتیموان با غلظت نهایی حدود ppm ۲/۵ باعث افزایش جذب می گردد.

لازم به توضیح است که باتوجه به آنکه میزان جذب پس از مدت ۳۰ دقیقه به حالت ثابت می‌رسد، لذا این شرایط را برای جذب انتخاب نمودیم.

جذب Sb (III) و Sb (V) توسط S.c در pH، دما و با مقدار مختلف قارچ مورد بررسی قرار گرفت.

چهار فاکتور اصلی بررسی عبارتند از :

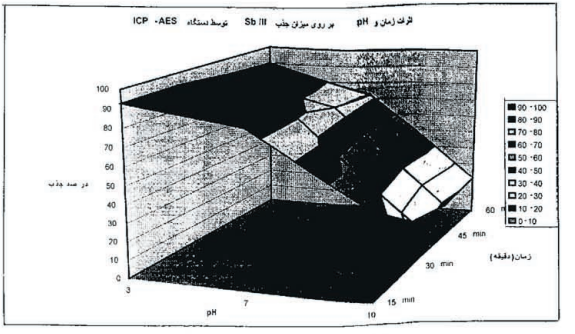
درجه اکسیداسیون آنتیموان

pH

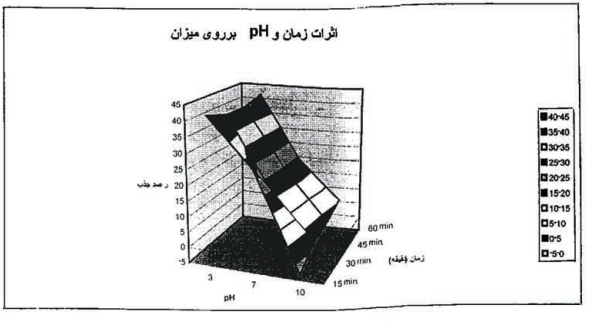
مقدار قارچ

زمان جذب

بیشترین جذب آنتیموان III با مقدار ۷۰۰ میلی گرم قارچ در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد و pH ۳ در مدت تماس ۳۰ دقیقه می‌باشد.



منحنی ۲: اثرات زمان و pH بر در صد جذب آنتیموان III



منحنی ۳: اثرات زمان و pH بر در صد جذب آنتیموان V

منابع و مآخذ

1- Corona, P., Madrid-Albarran, Y., and Camara, C., Free and immobilized yeast for chromium trace preconcentration and wastewater clean up (remediation), Quimica Analitica, **20, 29** (2001).

2- Gadd, G. M., Microbes in Extreme Environments, Academic Press, London, (1986).

3- Schiewer, S., and Volesky, B., Environmental Microbe-Metal Interactions, ASM Press, (2000).

4- Madrid, Y. and Camara, C., Comprehensive Analytical Chemistry, Elsevier Science B. V., (2000).

5- Madrid, Y., Barrio-Cordoba, M. E., and Camara, C., Analyst, **123**, 1593 (1998).

6- Yin, P., Yu, Q., Lin, Z., and Kaewsarn, P., *Environ.*, **22**(5), 509 (2001).

7- Tam, N. F. Y., Wong, J. P. K., and Wong, Y. S., *Environmental pollution*, **114**, 85 (2001).

8- Veglio, F. and Beolchini, F. *Hydrometallurgy*, **44**, 301 (1997).

9- Sag, Y., Biosorption of heavy metals by fungal biomass and modeling of fungal biosorption:a review separation and purification methods, **30**(1), 1, (2001).

10- Cervantes, C., Campos-Garca, J., Dervars, S., Gutierrez-Corona, F., Loza-Taera, H., Torres-Guzman, J. C. and Moreno-Sanchez, R., *FEMS Microbiology Reviews*, **25**, 335 (2001).

11- Rohling, O. and Neidhart, B., *Anal. chem.*, **71**, 1077 (1999).

12- Aller, A. J. Lumbreras, J. M. Robles, L. C. and Fernandez, G. M., Analytical proceedings including Analytical Communications, **32**, 511 (1995).

13- Slaveykova, V. I. and Wilkinson, K. J., *Environ.Sci.Technol.*, **36**, 969 (2002).

14- Taboada de la Calzada, A., Villa-Lojo, M. C., Beceiro-Gonzales, E., Alonso Rodriguez, E., and Prada-Rodriguez, D., *Appl. Organometal. Chem.*, **13**, 159 (1999).

15- Taboada-de la Calzada, A., Villa-Lojo, M. C., Beceiro-GonZalez, E., Alonso Rodriguez, E., and Prada-Rodriguez, D., *Trends in analytical chemistry*, **17**(3), 167 (1998).

16- Lehninger, A. L., In: Flammarion Medecine-Science (Ed.), Biochimie. Bases moleculaires de la structure et des fonctions cellulaires, 2nde edition, (1977).

17- Maquieria, A., Elmahadi, H. A. M. and Puchades, R., *Anal.Chem.*, **66**, 3632, (1994).

18- Bag, H., Lale, M., and Turker, D. R., *J. Anal. Chem.*, **363**, 224 (1999).

19- de Rome, L., and Gadd, G. M., *J. Ind.Microbiol.*, 7, 97 (1991).

20- Madrid, Y., Cabrera, C., Perez-Corona, T., and Camara, C., *Anal. Chem.*, **67**, 750 (1995).

21- Perez-Corona, T. madrid, Y., Camara, C., and Beceiro, E., *Spectrochim. Acta,* **B, 53,** 321 (1998).

22- Prez-Corona, T., Madrid, Y., and Camara, C., *Anal. Chem. Acta,* **345**, 249 (1997).

23- Goupy, J., Dunod (Ed.), La methode desplans deperiences, (1996).

24- Krachler and Emmons, H., *Trends in analytical chemistry*, **20**(2), 79 (2001).

25- Miekeley, N., Mortari, S. R., *Anal. Chem.*, (2002).

26- Cruickshank, M. A. W., Weis, T. T., Medical Microbiology, 20 th Ed., Vol.**2**, Chuchill Live in stonne New York, pp: 59, 71, 309 (1972).