

УДК 57.013; 576.52

С.В. Горобець, Ю.В. Карпенко, О.В. Ковальов, В.В. Олішевський

**ЗАСТОСУВАННЯ МАГНІТОМІЧЕНИХ КЛІТИН *S.cerevisiae*
ЯК БІОСОРБЕНТУ НА ОЧИСНИХ СПОРУДАХ**

This paper studies the sorption capacity of magnetically labeled biosorbents – yeast cells *Saccharomyces cerevisiae* – to remove iron ions (II). The study is conducted on model solutions and wastewater samples from Slavutych, Chernihiv region. We obtain magnetically treated biosorbents by modifying *Saccharomyces cerevisiae* baker yeast by magnetite nanoparticles. We perform modification by mechanical and multivortex magnetohydrodynamic mixing (MHDM) of yeasts' suspensions with magnetite nanoparticles. This paper presents the sorption isotherms of Fe(II) ions by magnetically labeled yeasts and electrokinetic potential of obtained biosorbents. We show that the sorption capacity of magnetically labeled yeast cells with magnetite nanoparticles, attached with multivortex MHDM, regarding iron ions is not reduced compared with biosorbents produced by mechanical mixing. We uncover the electrokinetic potential of magnetically labeled biosorbents before biosorption of Fe(II) cations. In addition, we reveal that the decrease of electrokinetic potential of magnetically labeled biosorbents suspension causes the reduction of its sorption capacity.

Вступ

Надлишковий вміст іонів важких металів у воді погіршує її органолептичні властивості і викликає у людини алергічні реакції. Іони заліза (II) і (III) є одними з найбільш розповсюджених забруднювачів господарсько-побутових і промислових стічних вод. Гранично допустима концентрація (ГДК) заліза у поверхневій воді – 0,3 мг/дм³ [1]. Проте концентрація іонів заліза (II) у стічній воді від операцій травлення залізовмісних речовин і сполук досягає 3–12 г/дм³ [2]. Підвищені концентрації іонів заліза у воді спостерігаються при її очищенні від хрому (VI) із застосуванням електрокоагуляції із залізними електродами.

Для знезалізнення води використовують такі методи обробки: реагентні, безреагентні, катіонообмінні, біологічні тощо [2]. Перші два методи належать до фізико-хімічних методів і передбачають окиснення заліза з утворенням його нерозчинних сполук. Метод катіонного обміну полягає в обміні катіонів заліза на катіони натрію та водню завдяки завантаженням фільтра. Біологічний метод передбачає вилучення іонів заліза за допомогою спеціальних мікроорганізмів [2].

Використання магнітомічених клітин дріжджів для біосорбції іонів важких металів, зокрема і заліза [3], на модельних розчинах досліджується більше двадцяти років [4, 5]. Відомо, що для створення магнітокерowanego біосорбенту з магнітною сприйнятливістю, достатньою для ефективного вилучення його з потоку рідини магнітними сепараторами, необхідно використання магнітних міток – частинок магне-

титу – кількість яких перебуває в межах від кількох до десятків відсотків від біомаси дріжджів [4, 6–8].

Лабораторні дослідження сорбції іонів заліза магнітоміченими дріжджами також показали, що сорбційна ємність магнітоміченого біосорбенту, виготовленого за допомогою багатовихрового магнітогідродинамічного перемішування (МГДП), не знижується порівняно з нативними дріжджами [3]. Покращені сорбційні характеристики магнітомічених клітин дріжджів пояснюються способом виготовлення біосорбенту. Проте поведінка магнітоміченого біосорбенту в реальних стічних водах може відрізнитись від лабораторних через різницю в умовах сорбції, а саме в рН, температурі, наявності конкурентних іонів тощо.

Постановка задачі

Метою роботи було дослідження процесу сорбції магнітоміченими дріжджами *S. cerevisiae* стічних вод на прикладі стоків м. Славутич (Чернігівська обл.), що мають наднормовану вихідну концентрацію іонів заліза після очисних споруд. Дослідження проводились для магнітокерowanych біосорбентів, виготовлених різними методами перемішування суспензії дріжджів з наночастинками магнетиту.

Матеріали і методи досліджень

У роботі використовуємо клітини дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* виробництва ЗАТ "ЕН-ЗИМ", сульфат заліза FeSO₄, хлориди заліза FeCl₃·6H₂O і FeCl₂, азотну HNO₃, хлористовод-

неву хлорну HCl і гіпохлоритну HClO кислоти та аміак NH_4OH , фенантролін $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, гідроксиламін NH_2OH .

Методика приготування магнітоміченого біосорбенту

Магнітомічений біосорбент отримували змішуванням суспензії дріжджів з наночастинками магнетиту. Для цього попередньо біомасу дріжджів розводили у дистильованій воді перемішуванням на механічній мішалці зі 180 хв^{-1} протягом 15 хв. Далі суспензію змішували зі стабілізованими в розчині гіпохлоритної кислоти наночастинками магнетиту. Концентрація дріжджів і наномагнетиту становила 4 г/дм^3 і 40 мг/дм^3 відповідно.

Для виготовлення магнітоміченого біосорбенту застосовували два методи перемішування. Магнітомічений біосорбент 1 отримували перемішуванням розчину дріжджів з наночастинками магнетиту за допомогою механічної мішалки з частотою обертів 180 хв^{-1} протягом 60 хв. Магнітомічений біосорбент 2 отримували перемішуванням розчину дріжджів з наночастинками магнетиту за допомогою багатовихрового МГДП протягом 10 хв [6].

Методика проведення біосорбції

Дослідження процесу сорбції проводили на зразках стічних вод, які відбирали після процесу механічного очищення і усереднення. Для порівняння окремо були підготовлені модельні зразки розчинів кристалогідрату сульфату заліза в дистильованій воді. Концентрація іонів заліза в стічних водах і, відповідно, лабораторних рідинах становила $3,52 \text{ мг/дм}^3$.

Одну об'ємну частину кожного зразка магнітомічених дріжджів з'єднували зі 100 частинами зразків стічних вод і модельних рідин. Біосорбцію магнітоміченими дріжджами проводили при механічному перемішуванні розчину протягом 120 хв [9], оскільки така тривалість процесу обумовлена технологічними особливостями очисних споруд, а саме – освітленням стічних вод від нерозчинних речовин. Для виявлення залишкової концентрації іонів заліза після процесу сорбції проводили фільтрування проб на паперових фільтрах “біла стрічка” для відокремлення магнітокерованого біосорбенту. Далі проводили вимірювання залишкового вмісту іонів у зразках.

Методика вимірювання на загальний вміст заліза

Для вимірювання вмісту заліза використовували методику з [1]. Вона базується на утворенні червоного комплексу при взаємодії іонів Fe (II) з 1,10-фенантроліном $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, який характеризується максимумом світлопоглинання на довжині хвилі $\lambda = 510 \text{ нм}$. Лінійна залежність світлопоглинання комплексу від концентрації Fe (II) зберігається у широкому діапазоні від $0,05$ до $2,0 \text{ мг/дм}^3$ для кювет з довжиною світлового шляху 10 або 50 мм. Коефіцієнт молярного поглинання комплексу становить $11 \cdot 10^3$. Якщо проба перед додаванням буфера була дуже кисла, то після його додавання перевіряли рН і доводили рН розчину концентрованим аміаком водним до $\text{pH} = 4,0$.

Оскільки реальні стічні води містять як Fe (II) , так і Fe (III) , перед внесенням у розчин стічних вод фенантроліну проводили відновлення Fe (III) до Fe (II) додаванням гідроксиламіну NH_2OH . Дослідження світлопоглинання розчину здійснювали при 510 нм у кюветі товщиною 50 мм порівняно з дистильованою водою. Отримані експериментальні дані надавались у вигляді ізотерм сорбції.

Результати та їх обговорення

Для досліджень вибирали такі концентрації магнітокерованого біосорбенту, за яких співвідношення кількості біосорбенту і кількості іонів заліза становило не більше 1:1. Таким чином, щоб визначити максимальну сорбційну ємність магнітокерованих біосорбентів, маса внесених біосорбентів у всіх дослідках не перевищувала початкову масу катіонів заліза, які підлягали вилученню.

На рис. 1 наведено ізотерми сорбції магнітокерованими біосорбентами іонів заліза із модельних розчинів (а) і проб стічних вод (б). Як видно, характери кривих сорбції для модельних розчинів і стічних вод відрізняються між собою за константами адсорбційної рівноваги і максимальною сорбційною ємністю. Це пояснюється різноманітністю складу стоків, що передбачає наявність конкурентної сорбції і викликає відхилення показників біосорбенту в реальних стоках порівняно з показниками сорбції іонів заліза для модельних розчинів. У цьому дослідженні були використані зразки стічних вод з показниками, наведеними в табл. 1.

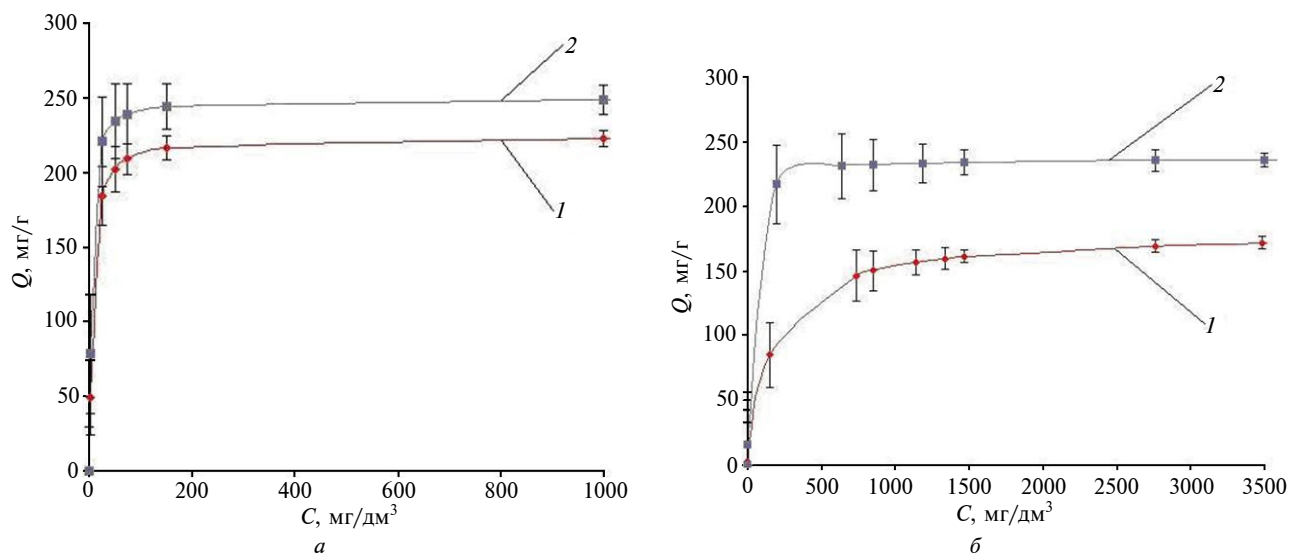


Рис. 1. Ізотерми сорбції іонів заліза магнітоміченими біосорбентами: *а* – модельні розчини, *б* – зразки стічних вод; *1* – магнітокерований біосорбент 1, *2* – магнітокерований біосорбент 2; *C* – залишкова концентрація катіонів заліза в розчині, мг/дм³; *Q* – сорбційна ємність магнітокерованого біосорбенту, в мг катіонів Fe (II) на 1 г біомаси

Як видно з табл. 1, зразки стічних вод являють собою багатокомпонентну суміш, в якій загальний вміст завислих речовин становить 259,5 мг/дм³, а вміст заліза – 3,52 мг/дм³.

Таблиця 1. Показники стічних вод м. Славутич

№	Показник якості	Значення, мг/дм ³
1	ХСК	316,2
2	БПК ₅	141,5
3	БПК повне	200
4	Завислі речовини	259,5
5	Залізо	3,52
6	Аміак по азоту	29,2
7	Хлориди	37,8
8	Сульфати	47,0
9	Нафтопродукти	0,24
10	Фосфати	6,20
11	Нітрити	0,11
12	Нітрати	1,12

На рис. 1, *а* наведено ізотерми сорбції магнітокерованими біосорбентами іонів заліза із модельних розчинів кристалогідрату сульфату заліза. Експериментально отримані ізотерми було описано рівнянням Ленгмюра [6], також було розраховано рівень видалення іонів заліза: магнітокерованим біосорбентом 1 – 220 мг/г біосорбенту натуральної вологості, магнітоке-

рованим біосорбентом 2 – 250 мг/г біосорбенту натуральної вологості.

На рис. 1, *б* подано ізотерми сорбції магнітокерованими біосорбентами іонів заліза із проб стічних вод. Згідно з рівнянням Ленгмюра було розраховано максимальний рівень видалення іонів заліза: магнітокерованим біосорбентом 1 із зразків стічних вод – 230 мг/г біосорбенту натуральної вологості, магнітокерованим біосорбентом 2 із зразків стічних вод – 170 мг/г біосорбенту натуральної вологості, що відповідає максимальному рівню видалення катіонів.

На основі результатів рис. 1, *а* і *б* можна провести порівняння ефективності магнітокерованих біосорбентів, виготовлених різними методами перемішування, і зробити висновок, що біосорбент, виготовлений за допомогою багатовихрового МГДП, має більшу сорбційну ємність, ніж біосорбент, виготовлений за допомогою механічного перемішування.

Розроблений магнітомічений біосорбент 2 має більшу сорбційну ємність порівняно з біосорбентом 1 за рахунок того, що має більший розподілений заряд на своїй поверхні. Про це свідчить розподіл кількості клітин магнітокерованого біосорбенту і їх електрокінетичного потенціалу, наведений на рис. 2. Результати зняті на приладі для вимірювання дзета-потенціалу Malvern Zetasizer Nano ZS.

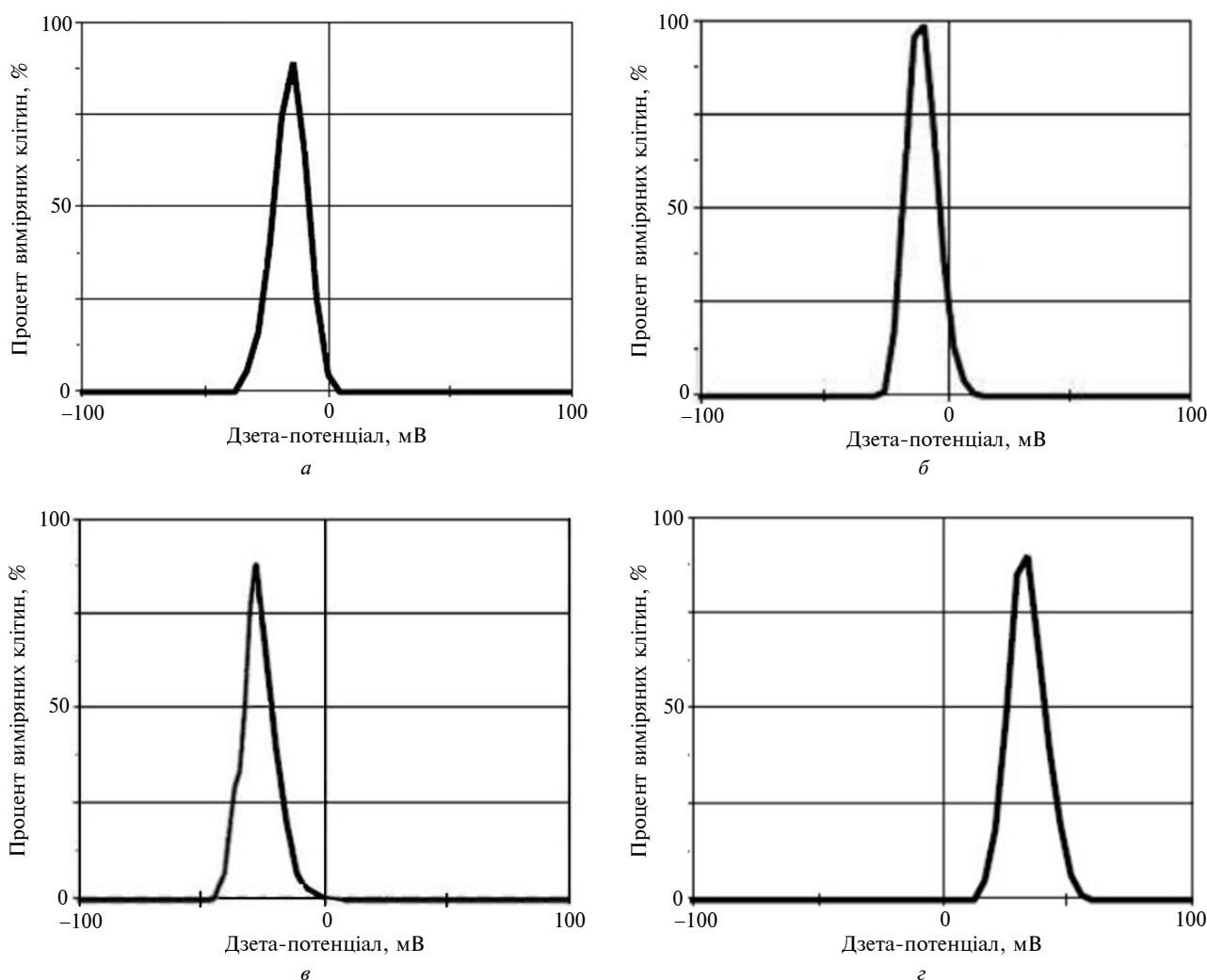


Рис. 2. Графіки електрокінетичного потенціалу нативних клітин дріжджів *S.cerevisiae* (а), магнітокерованого біосорбенту 1 (б), магнітокерованого біосорбенту 2 (в) та наночастинок магнетиту (з)

Як видно з рис. 2, магнітокерований біосорбент 2, виготовлений за допомогою багатовихрового МГДП (рис. 2, в), і магнітокерований біосорбент 1, виготовлений за допомогою механічного перемішування (рис. 2, б), мають одне пікове значення електрокінетичного потенціалу. Розподіл електрокінетичного потенціалу комплексів дріжджова клітина–магнітні мітки свідчить про те, що в загальному випадку на поверхні комплексів знаходиться різна кількість наночастинок магнетиту. Оскільки під час багатовихрового МГДП відбувається модифікація поверхні дріжджових клітин і зміна електрокінетичного потенціалу, а також деяка кількість наночастинок магнетиту проникає в периплазматичну область клітинної стінки дріжджової клітини, то для кожного конкретного значення електрокінетичного потенціалу суспензії можна виділити з розчину клітини з відповідною магнітною сприйнятливістю за допомогою високоградієнтного магнітного сепаратора. Оскільки для біосорбції катіонів найбільш ефективним буде біосорбент з від'ємним дзета-потенціалом, то на кривій розподілу можна виділити в цій області пікове значення -31 мВ, яке має найбільша кількість клітин в суспензії магнітокерованого біосорбенту 2. В цьому сенсі стає необхідним розділення отриманої суспензії магнітокерованого біосорбенту 2 на фракції і дослідження електрокінетичного потенціалу кожної фракції окремо.

Порівнюючи рис. 2, б і в, можна побачити, що магнітокерований біосорбент 1 має максимальний від'ємний дзета-потенціал -25 мВ, і це значення менше максимального від'ємного значення дзета-потенціалу біосорбенту 2. Отже,

магнітокерований біосорбент 2 має більшу кількість магнітомічених клітин, що мають розподілений поверхневий заряд і кращі сорбційні характеристики, підтверджені у [3]. Авторами запропоновано таке пояснення цього явища: магнітні мітки під час багатовихрового МГДП потрапляють всередину клітинної стінки дріжджів, частково змінюючи її структуру.

Також з рис. 2, в видно, що значна кількість клітин має електрокінетичний потенціал -25 мВ і більше, що свідчить про кращу седиментаційну стійкість суспензії [10], оскільки відомо, що зі збільшенням величини електрокінетичного потенціалу зростає вклад сил відштовхування на взаємне розташування частинок однієї фази.

Порівнюючи дані табл. 2, можна стверджувати, що в разі використання магнітомічених дріжджів, виготовлених за допомогою багатовихрового МГДП, сорбційна ємність біосорбенту залишається приблизно на рівні нативних клітин – 250 мг/г сорбенту натуральної вологості при оптимальному для біосорбції рН середовища, а електрокінетичний потенціал суспензії близький до значень для нативних дріжджів – -25 мВ. У той самий час сорбційна ємність і електрокінетичний потенціал магнітомічених дріжджів, отриманих за допомогою механічного перемішування, менші за відповідні показники у нативних дріжджів. Також можна зробити висновок, що зі зменшенням електрокінетичного потенціалу суспензії магнітокерovanого біосорбенту зменшується його сорбційна ємність.

Таблиця 2. Зіставлення дзета-потенціалу з сорбційною ємністю

Зразок	ζ потенціал, мВ	Кількість клітин, %	Сорбційна ємність відносно катіонів заліза (II), мг/г	
			модельні розчини	стічні води
Дріжджі <i>S.cerevisiae</i> (контроль)	-25 ± 5	100	250 ± 5	–
Магнітокерований біосорбент 1	-10 ± 6	100	220 ± 5	170 ± 5
Магнітокерований біосорбент 2	-31 ± 4	90	250 ± 10	230 ± 5

У реальних умовах для знезалізнення використовуються коагулянти, наприклад, гідроксилхлорид алюмінію, які дають залишкову концентрацію заліза на рівні $0,7-1$ мг/дм³. Використання магнітомічених дріжджів концентрацією 4 г/дм³ з гідроксилхлоридом алюмінію концентрацією 100 мг/дм³ дає кращі результати, а саме: через 2 год сорбції залишкова концентрація катіонів заліза становить величину, меншу за $0,1$ мг/дм³, тобто менше за ГДК.

Варто зазначити, що наведені результати були отримані при рН, подібному до зразків стічних вод. У випадку зменшення рН середовища від нейтрального до дуже кислого, буде зменшуватись і електрокінетичний потенціал [11] магнітомічених дріжджів, а сорбційна ємність магнітокерovanого біосорбенту буде найбільшою при рН = $5,5$ і зменшуватиметься при віддаленні від цього значення. Тому в нейтральному середовищі магнітомічені дріжджі будуть мати (див. табл. 2) високий електрокінетичний потенціал і достатню сорбційну ємність для видалення катіонів заліза.

Висновки

У цій роботі було досліджено ізотерми сорбції іонів заліза в пробах стічних вод. Отримані результати для багатоконпонентної суміші свідчать про складний характер сорбції магнітокерovanими дріжджами і наявність конкурентної сорбції катіонів. Щодо ефективності сорбції можна стверджувати, що магнітокерований біосорбент здатний вилучати в значних кількостях катіони, і його дійсна сорбційна ємність потребує визначення кількості сайтів зв'язування через визначення дзета-потенціалу.

Магнітокерований біосорбент, виготовлений за допомогою багатовихрового МГДП, має більшу сорбційну ємність і більший за абсолютною величиною дзета-потенціал, ніж виготовлений за допомогою механічного перемішування. Також зі зменшенням електрокінетичного потенціалу суспензії магнітокерovanого біосорбенту зменшується його сорбційна ємність.

Сорбційна ємність магнітокерovanого біосорбенту, виготовленого за допомогою багатовихрового МГДП, не зменшується порівняно з нативними дріжджами за рахунок того, що деяка кількість наночастинок магнетиту проникає в периплазматичну область клітинної стінки дріжджової клітини.

Отже, біомаса магнітомічених дріжджів показала себе як ефективний біосорбент катіонів важких металів, зокрема заліза.

У подальшому планується виділення фракції магнітомічених дріжджів, виготовлених за допо-

могою багатовихрового МГДП, яка б ефективно відфільтровувалась з очищеної води завдяки конкретному високоградієнтному магнітному сепаратору для очисних споруд, і визначення сорбційної ємності цієї фракції магнітомічених дріжджів.

1. КНД 211.1.4.034-95. Методика фотометричного визначення загального заліза з ортофенантроліном в поверхневих і стічних водах. – К., 1995. – С. 10.
2. Яковлев С.В., Скирдов И.В., Швецов В.Н. и др. Биологическая очистка производственных сточных вод: Процессы, аппараты и сооружения. – М.: Стройиздат, 1985. – 208 с.
3. Горобець С.В., Нгуєн Т.З., Карпенко Ю.В. Дослідження сорбції іонів заліза магнітоміченим біосорбентом // VI Всеукр. наук.-практ. конф. “Біотехнологія ХХІ століття”: Тези доп. – К.: НТУУ “КПІ”, 5 квітня 2012. – С. 147.
4. Patzak M. et al., “Development of Magnetic Biosorbents for Metal Uptake”, *Biotechnology Techniques*, vol. 11, no. 7, pp. 483–487, 1997.
5. Горобець С.В., Горобець О.Ю., Двойненко О.К. та ін. Очищення стічних вод від іонів Cu^{2+} (II) магнітокеруваним біосорбентом за допомогою високоградієнтних феромагнітних насадок // Наукові вісті НТУУ “КПІ”. – 2010. – № 3. – С. 21–25.
6. Горобець С.В., Карпенко Ю.В., Маринченко Л.В. Біосорбція іонів міді Cu^{2+} магнітоміченими клітинами *S.cerevisiae* // Вісн. Донецького нац. ун-ту. – Сер. А. Природничі науки. – № 1. – Донецьк, 2010. – С. 230–236.
7. Sung Ho Yang et al., “Interfacing Living Yeast Cells with Graphene Oxide Nanosheaths”, *J. Macromol. Biosci.*, vol. 12, pp.61–66, 2012.
8. Qingqing Peng et al., “Biosorption of Copper(II) by Immobilizing *Saccharomyces cerevisiae* on the Surface of Chitosan-Coated Magnetic Nanoparticles from Aqueous Solution”, *J. of Hazardous Materials*, vol. 177, Is. 1–3, pp. 676–682, 15 May 2010.
9. Канализация: Учеб. для вузов / С.В. Яковлев, Я.А. Карелин, А.И. Жуков, С.К. Колобанов – Изд. 5-е, перераб. и доп. – М.: Стройиздат, 1975. – 632 с.
10. Поверхностные явления и коллоидные системы / В.Н. Наумов, В.А. Малов, О.Н. Еронько, Е.Е. Бибик. – С.-П., 2007. – 146 с.
11. Y.V. Karpenko, S.V. Gorobets, “Electrophoretic Mobility Magnetically Labeled Yeast Cells *S.cerevisiae*”, *J. Functional Materials*, vol. 19, no. 3, pp. 362–369, 2012.

Рекомендована Радою
факультету біотехнології і біотехніки
НТУУ “КПІ”

Надійшла до редакції
29 травня 2013 року