

Fermentációs folyamatokból visszamaradt élesztősejtek bioszorpciós tulajdonságainak vizsgálata

Biosorption and characteristics of residual beer yeast cells from fermentation processes

Utilizarea în biosorbție a celulelor de drojdie de bere reziduală rezultate din procese de fermentație

MAJDIK Kornélia¹, TONK² Szende, INDOLEAN Cerasella¹, NAGY Boldizsár¹

¹ Babes-Bolyai University, Faculty of Chemistry and Engineering Chemistry,
11 Arany Janos st., RO-400028, Cluj-Napoca, Romania

² Sapientia University, Department of Environmental Sciences, Cluj-Napoca, Romania

ABSTRACT

The biosorption is an alternative method for the removal of heavy metal ions from wastewaters. The living yeast culture are largely used for biosorption processes to accumulate heavy metals. The residual beer yeast cells result from fermentation processes, show a great adsorption capacity which propose this material for industrial applications.

ÖSSZEFOGLALÓ

A bioszorpció alternatív lehetőség a nehézfémek eltávolítására a szennyvizekből. Az élesztősejtek különböző típusai alkalmasak a nehézfémek megkötésére. A fermentációs folyamatokból visszamaradt sörélesztősejtek magas adszorpciós kapacitást mutatnak s így alkalmassá válnak ipari alkalmazásra.

Kulcsszavak: *Saccharomyces Cerevisiae*, immobilizálás, nehézfémek, adszorpciós kapacitás

BEVEZETŐ

Az utóbbi évtizedek környezeti felmérései (monitoring) igazolták, hogy az ipari létesítmények közelében, városokban, közlekedési főútvonalak mentén, és sok esetben a szennyvizek, szennyvíziszapok mezőgazdasági területeken történő elhelyezésével kritikus mértékben megemelkedett a talaj nehézfém tartalma.

A toxikus nehézfémek felhalmozódása humán egészségügyi, ökológiai, biológiai jelentőséggel bír. Az EU-ban 2000. XII. 22-én hatályba lépett az EU vízpolitikáról szóló ún. Víz Keretirányelv (<http://www.euvki.hu/>), amely szabályozza a vizek nehézfémkoncentrációinak megengedett határértékét, ehhez kapcsolódnak az egyes országok kormányrendeletei, melyek szabályozzák a természetes vizek minőségi követelményeit.

A környezetbe különböző módon kikerülő nehézfémek eltávolítása feltétlenül szükséges, visszanyerésük és újrahasznosításuk fontos mind környezetvédelmi, mind gazdasági szempontból.

Napjainkban az új bioeljárások egyre nagyobb jelentőségűek a víztisztítás területén is.

A bioremediációs technikák egyik alternatív lehetősége a bioszorpciós folyamatokon alapuló víztisztítás. Az alkalmazott biomassza alapján valamint a víztisztítási eljárás paramétereinek függvényében a módszer gazdasági vonatkozásban is versenyképes lehet.

BIOLÓGIAI MÓDSZEREK ALKALMAZÁSA A NEHÉZFÉMEK MEGKÖTÉSÉBEN

A nehézfémek eltávolítása a környezetből jelenleg általában fizika-kémiai eljárásokon alapuló technikákkal történik, mint például precipitációval, koagulációval, redukcióval, adszorpcióval, ioncserés eljárással és különböző membrántechnikákkal. Ezen technikák mellett egyre jelentősebbek a biotechnológiai eljárásokon alapuló módszerek.

A mikroorganizmusok alkalmazása történhet az élő, élettelen vagy kezelt sejtek direkt felhasználásával, vagy a sejtek különböző rögzítési eljárásokkal történő immobilizált formájában.

Oldatban levő fémionok eltávolítására háromféle biológiai folyamat alkalmas:

- bioszorpció (adszorpció), melynek során a fémionok a mikroorganizmusok felületén kötődnek meg;
- fémionok intracelluláris felvétele, akkumulációja
- fémionok kémiai átalakulása mikroorganizmusok hatására.

A lehetséges mechanizmusok közül a bioszorpció a legáltalánosabb és leggyorsabb mechanizmus, ezért ennek van legnagyobb szerepe a szennyvízből történő fémszorpcióban. A bioszorpció kifejezés fémeknek élő vagy holt biomasszához való kötődésének passzív, nem anyagcsere által közvetített folyamatára utal.

A mikroorganizmusok sejtfalát alkotó poliszacharidok, fehérjék és lipidek biztosítják a nehézfémek megkötését. A bioszorpció folyamatban fontos szerepük van a sejtfalban levő funkcionális csoportoknak (amino-, karboxil-, szulf-hidril-, foszfát- és tiol). A sejtfal jellege és összetétele különböző az egyes mikroorganizmusok esetében, így nagy eltérés tapasztalható az adszorpció hatékonysága szempontjából a mikroorganizmusok különböző típusainál.

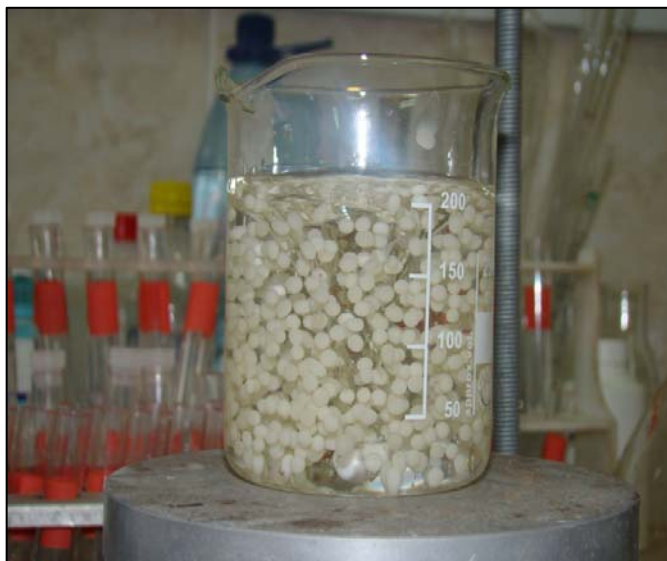
IMMOBILIZÁCIÓ

A mikroorganizmusok a környezeti változásokhoz történő alkalmazásának egyik formája a különböző felületekhez történő tapadás, vagy az egymáshoz tapadás. Ezt a természetes jelenséget fejlesztették tovább a kutatók, különböző rögzítési technológiákat kidolgozva.

A rögzítő eljárások elterjedtek a biotechnológiai eljárásokban. Az immobilizációs technikák előnye, hogy nagy sejtsűrűséget biztosítanak a lebontó vagy átalakító folyamatokban, és a művelet végén olcsón és hatékonyan el lehet távolítani a sejteket.

A sejtek rögzítése négy alapelv szerint történhet:

- Adszorpció előformázott hordozóhoz
- Kovalens kötés előformázott hordozóhoz
- A sejtek egymással való keresztkötése bi- vagy multifunkcionális reagensekkel
- Bezárás részecskébe, rostokba vagy mikrokapszulába



Rögzítés adszorpcióval

A sejtek természetétől és a környezettől függően használhatunk szilárd hordozókat (pl.: granulátumokat: zeolit, üveggyöngy, égetett agyag, stb.) a sejtek adhéziójára, vagy adszorpciójára. A módszer egyszerű, de függ az oldat pH-jától, a sejt típusától illetve az oldat természetétől.

Rögzítés kovalens kötéssel

A sejt hordozóhoz történő rögzítése kovalens kötéssel lehetséges a matrixon található csoporton keresztül vagy egy vegyület segítségével, ami a sejtet a hordozóhoz köti

Rögzítés keresztkötéssel

A mikroorganizmusok sejtfala szabad amino- és/vagy karboxil-csoportokkal rendelkezik. A keresztkötés könnyen kialakítható ezek között olyan bi- vagy multifunkcionális reagensekkel, mint a glutáraldehid vagy a toulén diizocianát.

Rögzítés gélbezárással

Egyszerűsége és kiváló sejtvisszatartó képessége miatt az egyik legalkalmasabb rögzítés típus olyan gél kialakítása, melybe a sejteket különböző polimerek *in situ* térhálósítása segítségével zárjuk. Az ilyen térhálós polimerek egyaránt lehetnek egy- és többkomponensűek. Természetes gélek (mint pl.: az agar, agaróz, alginát, karrageenan, kollagén, glükán, zselatin), kémiailag módosított természetes polimerek (pl.: cellulóz acetát), szintetikus gélek és polimerek (poliakrilamid, poliazetidin, polihidroxi-etilmetakrilát, stb.) mind alkalmazhatók sejtek immobilizálására.

A bioszorpció folyamatok tanulmányozására sikerrel alkalmaznak immobilizált sejteket.

Az immobilizálási technikák közül az egyik lehetőség a nátrium algináttal történő megkötés. Számos természetes és szintetikus polimer képes arra, hogy hidrofil mátrixra gélesedjen és olyan kíméletes körülmények között tegye ezt, ami a lehető legkisebb sejtkárosodással jár.

Az immobilizált sejtekkel végzett bioszorpció alkalmas ipari megvalósításra, folytonos eljárások kidolgozására.

Az immobilizálás számos előnyt biztosít a biotechnológiai folyamatokban:

- a). A rögzített élő sejtek képesek a hordozó anyagban vagy annak felületén szaporodni.
- b). Fokozott biológiai stabilitással rendelkeznek
- c). Ellenállóbbak a pH változással szemben.
- d). Nagy sejtkoncentrációt biztosítanak
- e). A rögzített sejteket egyszerű elválasztani a reakcióközegetől.

Az előnyök mellett hátrányokkal is számolnunk kell :

- a). A szaporodó sejtek kiszabadulhatnak az immobilizáló anyagból
- b). A diffúziós barrier a mátrix, vagy a nagy sejtsűrűség miatt növekedhet.
- c). Gazdaságossági szempontok figyelembevétele.

A legtöbb rögzítési módszer túl költséges ahhoz, hogy nagyléptékű feldolgozásban alkalmazzák

A KÁDMIUM MINT TOXIKUS ELEM

Napjainkban a nehézfém kifejezés köznapí szóhasználatban összekapcsolódott a toxikus elem fogalmával. Toxikus elemek olyan fémek vagy félfémek, melyek biológiai hatása bizonyos koncentráció-tartományban, illetve a fölött negatív. Azonban e mellett néhányuk kis koncentrációban való jelenléte elengedhetetlen az élő szervezetek zavartalan működéséhez.

Nehézfémeknek nevezzük azokat a fémeket, amelyek sűrűsége 5 g/cm^3 -nél, rendszáma 20-nál nagyobb. Legveszélyesebb nehézfém szennyezők közé sorolható a kutatás során vizsgált kádmiium elem is. A talaj-növény rendszerben a kádmiium nagyon mobilis. A növények kádmiium felvétele leggyakrabban a gyökéren keresztül történik, de bekövetkezhet a levelek felületére került porból is. A növények sokáig elviselik a magas kádmiium tartalmat, így a kádmiium könnyen bekerülhet az állati és emberi táplálékláncba jóval azelőtt, hogy maguk a növények láthatóan károsodnának. Az emberi és állati szervezetben a kádmiium felhalmozódik, így erős toxicitást fejt ki. A kádmiium legfőbb veszélye, hogy képes helyettesíteni az esszenciális cinket, annak jótékony élettani hatása nélkül. A krónikus kádmiium toxicitás tünetei közül megemlíthető a szív- és veseelégtelenség, a magas vérnyomás, rákkeltő hatás, csontelváltozások, tüdőkárosodás.

A bioszorpciós folyamatok tanulmányozására sikerrel alkalmaznak immobilizált sejteket.

Az immobilizált sejtekkel végzett bioszorpció alkalmas ipari megvalósításra, folyamatos eljárások kidolgozására.

GYAKORLATI RÉSZ

Fermentációs eljárásokból visszamaradt élesztősejtek alkalmazása

Cd ionok megkötésére vizes oldatokból.

A sörgyártás hulladéka a fermentációs folyamatból visszamaradt kifáradt sörélesztő. Kutatásaink célja bioszorpciós eljárások kidolgozása a sörgyártásból visszamaradt élesztősejtek esetében, valamint az abszorpciós kapacitások meghatározása és összehasonlítása a kereskedelmi valamint tenyésztett élesztősejtekkel. A víztisztítási alkalmazás céljából vizsgáltuk az immobilizálási lehetőségeket is. A kísérleteket szuszpenziós rendszerekben illetve adszorpciós oszlopokon végeztük, optimalizálva a technológiai paramétereiket.

A sörgyári élesztősejtek immobilizálása gélbezárással történt, Na algináttal.

A gélgyöngyök készítéséhez a hagyományos csepegtetős módszert alkalmaztuk.

Anyagok és Módszerek

Bioszorbens:

- Kereskedelmi élesztő
- Sörgyártás során a fermentációs folyamatokból visszamaradt élesztő
- Tenyésztett élesztő

Immobilizálás: nátrium-alginát

Kádmiium oldatok: $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$:- 5 mg/L Cd^{2+} ; 15 mg/L Cd^{2+} ; 30 mg/L Cd^{2+}

Analitikai meghatározás

- Kádmiium szelektív *Consort Lead Combination Electrode PB21508-003B* elektróddal
- Atomabszorpciós spektrometriás módszer
- FTIR meghatározások
- Elektronmikroszkópos vizsgálatok

BIOSZORPCIÓS FOLYAMATOK KÍSÉRLETI VIZSGÁLATA

1. Szuszpenziós rendszerben

A megvalósítás egyszerű és könnyen kivitelezhető. A különböző koncentrációjú Cd ionok vizes oldatából a megfelelő élesztősejtekkel vizes szuszpenziót állítunk elő, megfelelő keverés mellett.

2. Adszorpciós oszlopok segítségével

Az adszorpciós oszlopok esetében immobilizált élesztősejtek megkötési kapacitásának vizsgálata történt. Az immobilizálás nátrium-algináttal történt, csepegtetős módszerrel. Az alginát gyöngyöket a homogenizált élesztő szuszpenzióját 1 M-os CaCl₂ oldatba csöpögtetve kaptuk.

Vizsgált paraméterek:

- Kádmiium ionok koncentráció csökkenése az idő függvényében
- Adszorpciós kapacitások meghatározása
- Bioszorpciós egyensúlyok paramétereinek meghatározása. Izotermák számítása
- Hőmérséklet hatása a bioszorpciós kapacitásra
- Termodinamikai és kinetikai állandók számítása
- Sejtfelületi megkötési mechanizmusok
- Kémiai kezelések alkalmazása a bioszorbensekre

KÖVETKEZTETÉSEK

A kísérleti eredmények igazolják, hogy a *Saccharomyces cerevisiae* sejtek alkalmasak nehézfémek megkötésére, és így alkalmazhatóak a szennyvíztisztításban. A vizsgált bioszorbensek, a különböző típusú élesztősejtek, élő szuszpenzió formájában, vagy immobilizált formában képesek a nehézfémek felületi illetve intarcelluláris akkumulációjára.

A szorpciós folyamatok vizsgálata az idő függvényében igazolta, hogy a folyamat az első 5-10 percben gyors, majd lassú folyamat során 1-2 óra alatt éri el az adszorpciós egyensúly feltételeit. Az adszorpciós egyensúly a Freundlich és Langmuir izotermával jellemezhető. A számított korrelációs együtthatók igazolják, hogy a Langmuir izoterma alkalmasabb az egyensúlyi folyamat leírására, mint a Freundlich izoterma

A kezdeti nehézfém koncentráció befolyásolja az adszorpciós kapacitást, a koncentráció növelésével, nő az adszorpciós kapacitás.

A kinetikai számítások igazolták, hogy a bioszoprció egy pseudo másodrendű folyamat kinetikája szerint megy végbe.

A számított korrelációs együtthatók igazolják, hogy a Langmuir-izoterma alkalmasabb az egyensúlyi folyamat leírására, mint a Freundlich-izoterma.

A kémiai kezelések alkalmazása igazolta, hogy a sejtfal felületén levő funkciós csoportoknak alapvető szerepük van a bioszorpciós folyamatban. A vizsgált FTIR spektrumok alátámasztják, hogy a kémiai felületkezelések nagymértékben befolyásolják az élesztősejtek adszorpciós kapacitását.

A különböző típusú élesztősejtek összehasonlítása bebizonyította, hogy a sörgyári hulladék élesztősejtek adszorpciós kapacitása nagyobb mint a kereskedelmi és a tenyésztett élesztősejteké.

A kémiai kezelések közül kiemelkedő eredmények kellektek a nátrium-hidroxidos kezelés során, amely nagymértékben megnövelte az adszorpciós kapacitást, minden típusú élesztősejt esetében.

A fermentációból visszamaradt élesztősejtek bioszorpciós tulajdonságainak vizsgálati eredményei igazolják az ipari alkalmazás lehetőségét a szennyvíztisztításban.



IRODALOMJEGYZÉK

- [1]. K. Vijayaraghavan, Yeoung-Sang Yun: Bacterial biosorbents and biosorption, *Biotechnology Advances* 26 (2008) 266–291.
- [2]. Runping Hana, Hongkui Li, Yanhu Li, Jinghua Zhang, Huijun Xiao, Jie Shi: Biosorption of copper and lead ions by waste beer yeast, *Journal of Hazardous Materials B137* (2006) 1569–1576.
- [3]. Jianliang Yu, Xu Zhang, Tianwei Tan: An novel immobilization method of *Saccharomyces cerevisiae* to sorghum bagasse for ethanol production, *Journal of Biotechnology* 129 (2007) 415–420.
- [4]. Cornelia Majdik^a, Cerasella Indolean^a, **Tonk Szende**^a, Andrada Măicăneanu^a, Pernyeszi Timea^c, Tóthmérsz Béla^d: Removal Of Zn²⁺ From Some Synthetic Wastewaters By Immobilized *Saccharomyces cerevisiae* Cells, *STUDIA UNIVERSITATIS BABEȘ-BOLYAI, CHEMIA*, LIII, 3, 2008; pp. 71-76.
- [5]. Szende Tonk¹, Andrada Măicăneanu², Cerasella Indolean², Silvia Burcă², Cornelia Majdik²: Application of immobilized waste brewery yeast cells for Cd²⁺ removal. Equilibrium and Kinetics, *JOURNAL OF CHEMICAL SERBIAN SOCIETY*, Vol. 76, No.3, pp. 363-373.
- [6]. Cornelia Majdik^a, Cerasella Indolean^a, **Tonk Szende**^b, Andrada Măicăneanu^a, Maria Stanca^a, Paul Mezey^c: Suspended and immobilized brewery waste biomass and commercial yeast biosorbents for Cd(II) removal. A thermodynamic study. *REVUE ROUMAIN DE CHIMIE*, Vol. 55, No. 11-12, pp. 871-877.
- [7]. **Tonk Szende**^a, Cerasella Indolean^b, Silvia Burcă^b, Andrada Maicaneanu^b, Kocsis Bela^c, Majdik Cornelia^{*b}: Biosorption of Cd²⁺ Ions By Immobilized Cells of *Saccharomyces cerevisiae*. Adsorption Equilibrium and Kinetic Studies, *STUDIA UNIVERSITATIS BABEȘ-BOLYAI, CHEMIA*, LV, 3, 2010, pp. 129-137.