

Применение КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК ДРОЖЖЕЙ для сорбционного концентрирования и определения низких концентраций тяжелых металлов в сточных и питьевых водах методом инверсионной вольтамперометрии

Показана возможность биосорбционного концентрирования низких содержаний тяжелых металлов в сточных и питьевых водах для последующего их определения методом инверсионной вольтамперометрии

Введение

Контроль содержания тяжелых металлов в объектах окружающей среды на уровне их предельно допустимых концентраций является важной экоаналитической задачей [1-3]. Широко используемые физико-химические методы не всегда обеспечивают прямое определение тяжелых металлов из-за влияния матричного состава пробы, а также низких концентраций определяемых элементов. Использование методов предварительного концентрирования позволяет выделить следовые количества веществ из большого объема солевого раствора сложного состава и обеспечить представительность пробы, а также снизить пределы обнаружения, устранить полностью или значительно уменьшить влияние фоновых макроэлементов, что, в свою очередь, повышает точность и чувствительность анализа [4].

Развитие методов концентрирования, особенно в последние десятилетия, показало перспективность сорбционного концентрирования, как наиболее технологичного, обеспечивающего высокие коэффициенты концентрирования элементов [5-7].

Исследование биосорбционных характеристик микроорганизмов различных таксономических групп позволяет прогнозировать возможность использования сорбентов на их

основе для предварительного концентрирования ультрамикроколичеств тяжелых металлов, радионуклидов и токсинов в аналитической химии [8-12].

Настоящая работа посвящена изучению возможности применения клеточных стенок пивоваренных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в качестве биосорбента для концентрировании низких содержаний ионов Cd^{2+} , Pb^{2+} и Cu^{2+} в сточных и питьевых водах с целью дальнейшего их определения инверсионно-вольтамперометрическим методом.

С.Д. Аронбаев*,

аспирант,
Самаркандский
государственный
университет
им. А. Навои

А.М. Насимов,

доктор технических
наук, профессор,
заведующий
кафедрой
неорганической
химии факультета
естественных наук,
Самаркандский
государственный
университет
им. А. Навои

Д.М. Аронбаев,

кандидат химических
наук, Самаркандский
государственный
университет
им. А. Навои

Материалы и методы исследования

В работе использовали осадочные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* штамм W-37, отобранные из цилиндрического танка после фильтрации основного продукта – пива. Осадочные дрожжи подвергали следующей обработке: биомассу центрифугировали с использованием центрифуги РС-6 при 5000 об/мин (~3600 g), осадок дрожжей отмывали дистиллированной водой до получения прозрачного раствора, автоклавировали при 130 °С в течение 1,5 ч и высушивали в вакуумном шкафу при 65 °С.

Высушенную биомассу дрожжей размельчали в электромельнице и просеивали через сито с диаметром отверстий 0,3-0,5 мм.

Биосорбционное концентрирование осуществляли с использованием герметично

* Адрес для корреспонденции: diron51@mail.ru

закрываеваемых фляжек объемом ~ 100 мл, изготовленных из ПЭТ-преформ под размер стаканов для ротора центрифуги РС-6. Для этого во фляжку помещали 0,3 г биосорбента из дрожжевой биомассы и 100 мл анализируемого водного раствора с рН, близким к нейтральному. На дно фляжки опускали 1-2 стеклянных шарика диаметром 5-6 мм для активации перемешивания и тщательно закрывали. Фляжки с анализируемым раствором и биосорбентом закрепляли на платформе горизонтального встряхивателя АБУ-6С и проводили биосорбцию в течение 30 мин при скорости встряхивания 150 об/мин. Затем фляжки помещали в ротор центрифуги РС-6 и центрифугировали в течение 15 мин при 3000 об/мин (~2100g). Надосадочную жидкость сливали, не извлекая шариков-активаторов, и вносили по 2 мл 0,2 М HCl. Фляжки закрывали, помещали на встряхиватель и проводили десорбцию в течение 15 мин при 150 об/мин. Затем вновь проводили центрифугирование и определяли концентрации ионов кадмия, свинца и меди инверсионно-вольтамперометрическим методом на компьютеризированном вольтамперометрическом комплексе на базе универсального полярографа ПУ-1 [13] с использованием трехэлектродной стеклянной ячейки с индикаторным толсто пленочным ртутно-графитовым электродом.

С целью миниатюризации электрохимической ячейки использовали комбинированный электродный узел, состоящий из индикаторного пленочного ртутно-графитового электрода, изготовленного по [14] и закрепленный с электродом сравнения ЭВЛ-1М4, вокруг которого навита платинированная проволока диаметром 0,2 мм, играющая роль вспомогательного электрода. Этот электродный узел помещался в стеклянную ячейку объемом ~ 5 мл, снабженную краном для удобства промывки и смены анализируемой жидкости (рис. 1).

Электрохимическая ячейка соответствующим образом закреплялась в датчике ДП-1, входящем в состав полярографа ПУ-1. Автоматическое перемешивание анализируемого раствора осуществлялось с помощью эксцентрика, насаженного на вал механической мешалки датчика, ударяющего по поверхности комбинированного электродного узла. Это приспособление позволило уменьшить объем анализируемого образца до 2 мл с сохранением метрологических характеристик инверсионно-вольтамперометрического анализа с использованием традиционных электрохимических ячеек (рис. 2).

В качестве электролита использовали 0,2 н HCl. Концентрации тяжелых металлов опре-

деляли методом добавок путем расчета по графическому построению или с использованием формулы:

$$C_x = \frac{h_1 m_1}{(h_2 - h_1) V_1 F}$$

где C_x – исходная концентрация иона металла в пробе мг/дм³;

h_1 – высота пика металла, полученная при первом полярографировании (без добавки), мм;

h_2 – высота пика металла, полученная при втором полярографировании (с добавкой), мм;

m_1 – масса металла, добавки, мг;

V_1 – объем испытуемого раствора, взятого для полярографирования, дм³ (в нашем случае 0,002 дм³);

F – фактор концентрирования (в нашем случае $F = 50$).

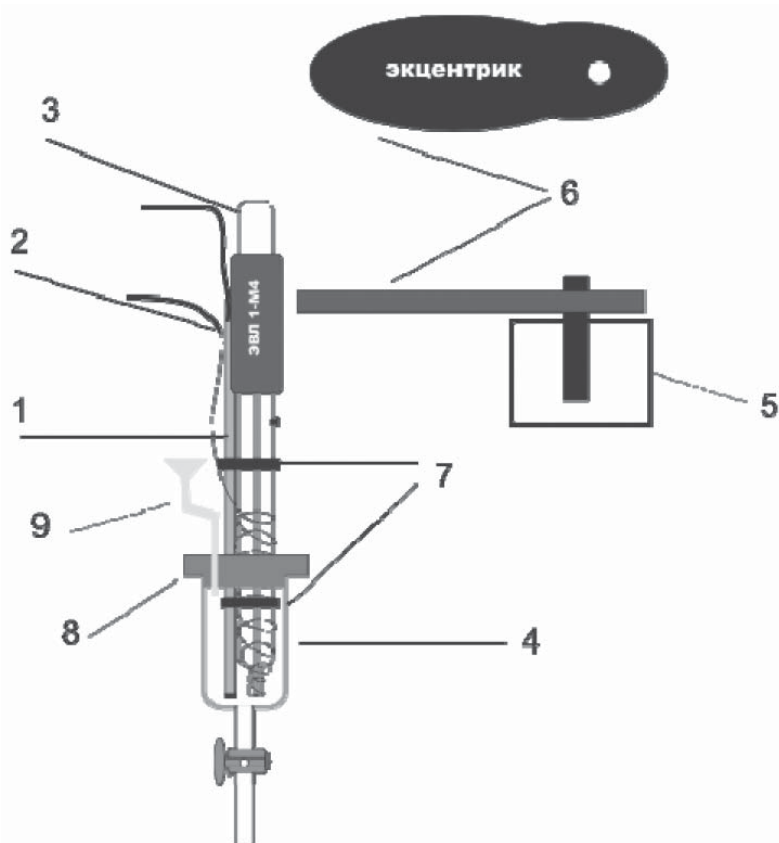


Рис. 1. Трехэлектродный комбинированный узел с вибрирующим дисковым электродом:

- 1 – измерительный дисковый электрод из углеграфита;
- 2 – вспомогательный электрод из платинированной проволоки;
- 3 – электрод сравнения ЭВЛ 1М-4;
- 4 – стеклянная ячейка с краном;
- 5 – электромеханическая мешалка датчика ПУ-1;
- 6 – эксцентрик;
- 7 – хомутики для фиксации элементов электродного узла;
- 8 – пробка из эластичного материала для крепления электродного узла с ячейкой;
- 9 – воронка для внесения анализируемой пробы.

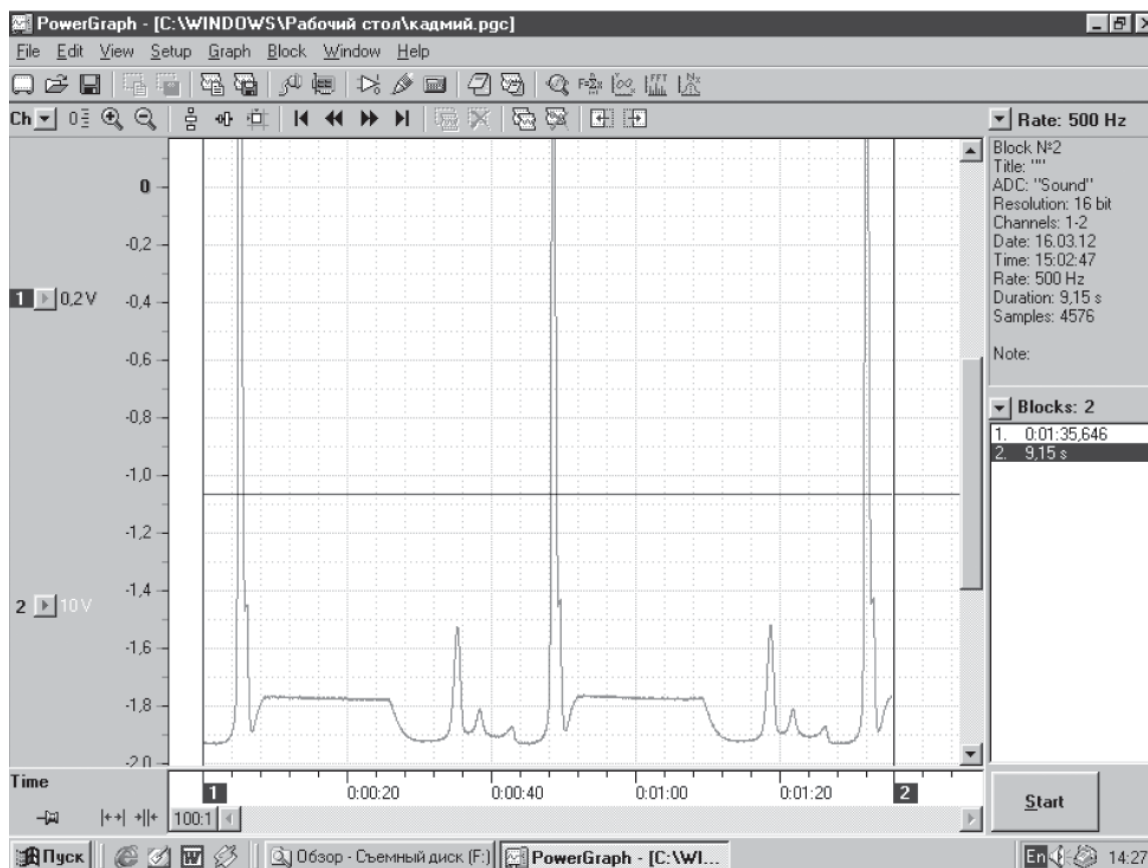


Рис. 2. Вольтамперограмма анодного растворения смеси катионов кадмия, свинца и меди после введения стандартной добавки кадмия, 10 мкг (отображено на мониторе вольтамперометрического комплекса с использованием программы PowerGraph 2.0 – «электронный самописец»).

Условия: фон – 0,2 н HCl + $5 \cdot 10^{-4}$ М Hg(NO₃)₂; $E_{\text{накопл.}} = -1100$ мВ, $\tau = 20$ с; $v = 55$ мВ/с; электрод пленочный ртутно-графитовый, полученный по методу in situ.

Статистическую обработку результатов анализа проводили с использованием пакета статистических программ OriginLab 6.0.

Результаты и их обсуждение

Ранее нами было показано, что клеточные стенки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, подвергнутые определенной обработке, обладают приемлемыми сорбционными свойствами по отношению к ионам Cd²⁺, Pb²⁺, Cu²⁺ [15, 16]. Была установлена приоритетность различных функциональных групп природных биополимеров клеточных стенок дрожжей в биосорбционных процессах, рассмотрен вероятный механизм биосорбции и сделан вывод о возможности их использования в качестве сорбента тяжелых металлов и других экотоксикантов в аналитических целях [12, 17]. В табл. 1 приведены некоторые результаты этих исследований.

Из таблицы следует, что биосорбент на основе клеточных стенок дрожжей вполне

может справиться с задачей концентрирования ультрамикроразбавлений указанных ионов для их последующего определения любым из физико-химических методов анализа, включая инверсионную вольтамперометрию [18-20].

Скорость физической адсорбции на непористых адсорбентах, к которым по праву можно отнести биомассу дрожжей, определяется скоростью, с которой адсорбтив достигает поверхности адсорбента, т.е. скоростью диффузии. Замедленность физической адсорбции объясняется как самим строением адсорбента, так и возможной сопутствующей хемосорбцией, поскольку именно адсорбция ионов тяжелых металлов на биополимерах характеризуется этим сложным процессом [16, 21].

Типичные кинетические кривые адсорбции имеют вид параболы, уравнением которой описываются изотермы адсорбции. Форма этих кривых имеет то же объяснение, что и форма изотермы адсорбции. В начале адсорбция пропорциональна времени, так как поверхность адсорбента свободна от адсорбтива. После установления равновесия адсорбции и насыщения поверхности адсорбента адсорбция перестает зависеть от времени и графики идут параллельно оси времени.

В целом процесс биосорбции следует рассматривать как осуществление следующих друг за другом этапов: диффузия ионов

Таблица 1

Характеристические параметры изотерм адсорбции для ионов Pb^{+2} , Cd^{+2} и Cu^{+2} в координатах Фрейндлиха и Ленгмюра*

| Металл | Расчеты по уравнению Фрейндлиха | | | Расчеты по уравнению Ленгмюра | | |
|------------------|---------------------------------|-------|----------------|-------------------------------|--------|----------------|
| | n | K | R ² | Q _{max} , мг/г | b | R ² |
| Pb ⁺² | 0,598 | 2,951 | 0,9002 | 125,0 | 0,0131 | 0,9866 |
| Cd ⁺² | 0,390 | 6,025 | 0,9797 | 34,48 | 0,0331 | 0,8409 |
| Cu ⁺² | 0,380 | 3,980 | 0,9840 | 25,60 | 0,0780 | 0,9310 |

* – концентрация сорбента (биомассы) 1 г/л, начальная концентрация ионов металлов 100 мг/л, t = 25 °С, рН 5,4; частота встряхивания горизонтального шейкера 150 качаний/мин.

металла к поверхности биосорбента; поверхностная адгезия ионов металла на биосорбенте; хемосорбция на «сайтах» биополимера с определенными функциональными группами; закрепление ионов металла или восстановленных металлических частиц на поверхности дрожжевой клетки.

Математическая модель скорости биосорбции ионов тяжелых металлов может быть описана уравнениями адсорбции:

$$v_{\text{адсорбции}} = k_1 C_{\text{равн.}} (1 - \theta)$$

и десорбции:

$$v_{\text{десорбции}} = k_2 \cdot \theta$$

где $C_{\text{равн}}$ – равновесная концентрация иона металла;

k_1 и k_2 – константы скорости адсорбционного и десорбционного процессов, соответственно;

θ – поверхность адсорбента с сорбированным ионом.

При равновесии, т.е. при соблюдении равенства $k_2 \cdot \theta = k_1 C_{\text{равн.}} (1 - \theta)$ получаем уравнение Ленгмюра:

$$\theta = KC / (1 + KC),$$

где $K = k_1/k_2$

Последнее равенство может быть преобразовано в уравнение Ленгмюра-Хиншельвуда для расчета скорости адсорбции в монослое:

$$v_{\text{адсорбции}} = kC / (1 + KC).$$

Для начальной стадии биосорбции, когда концентрация ионов металла C еще велика, процесс может быть описан уравнением:

$$v_{\text{адсорбции}} = kC.$$

Для оптимизации длительности процесса биосорбции тяжелых металлов нами изучалась кинетика сорбции индивидуальных

исследуемых ионов в эталонных растворах с исходной концентрацией 20 мг/л.

Результаты исследования представлены на рис. 3.

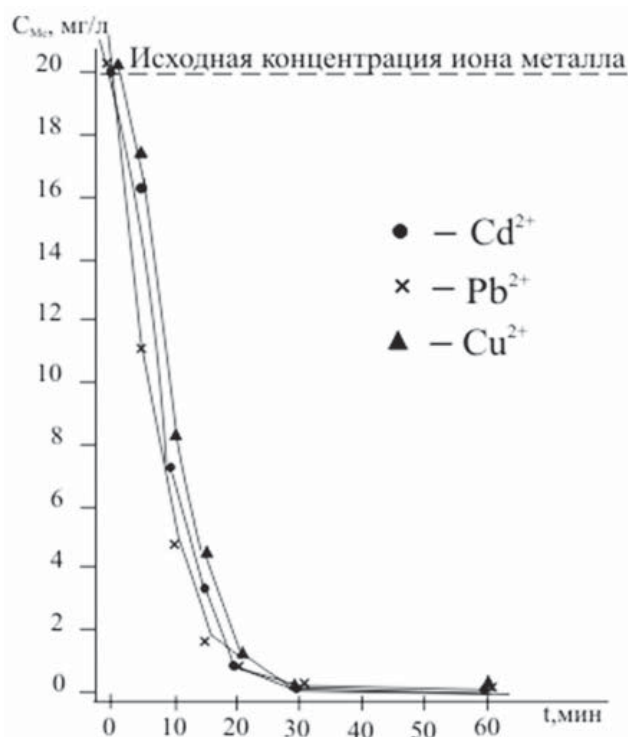
Как видно, сорбционное равновесие наступает уже на 30 минуте и, следовательно, время, необходимое и достаточное для проведения сорбции ионов металла составляет 30 мин (полнота сорбции для ионов Cd^{+2} , Pb^{+2} , Cu^{+2} составляет 99,8 %; 99,7%; 99,75%, соответственно).

Правильность анализа оценивали методом «введено-найдено», для чего находили содержание ионов металлов в стандартных смесях (табл. 2).

Разработанная методика применена в анализе сточных и питьевых вод, результаты приведены в табл. 3.

Из полученных результатов следует, что методика биосорбционного концентрирования ионов тяжелых металлов обладает при-

↓ **Рис. 3.** Кинетика биосорбции ионов Pb^{+2} , Cd^{+2} и Cu^{+2} клеточными стенками дрожжей.



емлемыми для анализа параметрами и может быть использована в аналитической химии для определения ультрамикрочислеств тяжелых металлов инверсионно-вольтамперометрическим или иным методом.

Как следует из приведенных результатов анализа в питьевой воде водопроводной сети Самарканда превышение концентраций тяжелых металлов по сравнению с ПДК не наблюдается.

Заключение

Проведенные исследования свидетельствуют о возможности применения клеточных стенок дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* для концентрирования ультрамикрочислеств ионов тяжелых металлов в аналитических целях.

Таблица 2

Оценка правильности определения ионов тяжелых металлов в стандартных смесях

| Введено (стандартная смесь), мг | | | Найдено, мг | | | R % | | |
|---------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Cd ²⁺ | Pb ²⁺ | Cu ²⁺ | Cd ²⁺ | Pb ²⁺ | Cu ²⁺ | Cd ²⁺ | Pb ²⁺ | Cu ²⁺ |
| 5 | – | – | 4,89±0,33 | 0 | 0 | 97,8 | – | – |
| – | 5 | – | – | 4,72±0,44 | – | – | 94,4 | – |
| – | – | 5 | – | – | 5,04±0,38 | – | – | 100,8 |
| 5 | 5 | 5 | 4,77±0,45 | 4,90±0,43 | 5,08±0,42 | 95,4 | 98,0 | 101,6 |
| 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,48±0,11 | 0,52±0,12 | 0,51±0,12 | 96,0 | 104,0 | 102,0 |

Примечание: R-процент открытия

Таблица 3

Результаты инверсионно-вольтамперометрического определения ионов Cd²⁺, Pb²⁺ и Cu²⁺ в воде с предварительной биосорбцией клеточными стенками дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (n=5, P=0,95)

| Объект | Найдено C _{Me} • 10 ² , мг/л | | | | | |
|-----------|--|-------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|
| | Cd ²⁺ | S·10 ² | Pb ²⁺ | S·10 ² | Cu ²⁺ | S·10 ² |
| | Сточные воды ПДК _{Cd(II)} < 0,001 мг/л; ПДК _{Pb(II)} = 0,06 мг/л; ПДК _{Cu(II)} = 5 мг/л | | | | | |
| Проба № 1 | 0,79 ± 0,25 | 0,20 | 2,10 ± 0,52 | 0,42 | 8,27 ± 0,67 | 0,54 |
| Проба № 2 | 0,097 ± 0,023 | 0,019 | 9,52 ± 1,19 | 0,96 | 11,97 ± 0,73 | 0,59 |
| Проба № 3 | 0,180 ± 0,044 | 0,035 | 4,96 ± 0,73 | 0,58 | 12,36 ± 0,65 | 0,52 |
| | Вода р. Зеравшан ПДК _{Cd(II)} < 0,001 мг/л; ПДК _{Pb(II)} = 0,06 мг/л; ПДК _{Cu(II)} = 5 мг/л | | | | | |
| Проба № 4 | 0,170 ± 0,045 | 0,036 | 3,07 ± 0,06 | 0,49 | 11,81 ± 1,63 | 1,30 |
| | Вода из водопроводной сети г. Самарканд ПДК _{Cd(II)} < 0,001 мг/л; ПДК _{Pb(II)} = 0,03 мг/л; ПДК _{Cu(II)} = 1 мг/л | | | | | |
| Проба № 5 | 0,093 ± 0,023 | 0,019 | 1,00 ± 0,18 | 0,14 | 6,52 ± 1,10 | 0,89 |
| Проба № 6 | 0,055 ± 0,014 | 0,011 | 1,01 ± 0,36 | 0,29 | 10,32 ± 1,58 | 1,27 |
| Проба № 7 | 0,034 ± 0,011 | 0,009 | 1,00 ± 0,11 | 0,09 | 11,10 ± 1,50 | 1,21 |

Литература

1. Барбье М. Введение в химическую экологию. М.: Мир, 1978. 457 с.
2. Веронова Л.Д. Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем / Л.Д. Веронова, А.В. Денисова, И.Г. Пушкарь. Л.: Гидрометеиздат, 1985. Т. 8. С. 75.
3. Белявская Т.А. В кн. Определение малых концентраций элементов / Т.А. Белявская, Г.Д. Брыкина. М.: Наука, 1986. С. 85-94.
4. Золотов Ю.А. Концентрирование микроэлементов / Ю.А. Золотов, Н.М. Кузьмин. М.: Химия, 1982. 288 с.
5. Мицуике А. Методы концентрирования микроэлементов в неорганическом анализе. М.: Химия, 1986. 151 с.
6. Москвин Н.Л. Методы разделения и концентрирования в аналитической химии / Н.Л. Москвин, Л.Г. Царицина. Л.: Химия, 1991. 256 с.
7. Золотов Ю.А. Сорбционное концентрирование микрокомпонентов для целей химического анализа / Ю.А. Золотов, Г.И. Цизин,

Е.И. Моросанова, С.Г. Дмитриенко // Успехи химии. 2005. Т. 74. № 1. С. 41-66.

8. Volesky B. Biosorption of heavy metals: A review / B. Volesky, Z.R. Holan // Biotechnol. Prog. 1995. № 11. P. 235-250.

9. Wang J. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: A review / J. Wan, C. Chen // Biotechnology Advances. 2006. № 24. P. 427-451.

10. Насимов А.М. Биосорбция ионов свинца, кадмия и меди осадочными дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* / А.М. Насимов, С.Д. Аронбаев // Экологические системы и приборы. 2011. № 2. С. 3-7.

11. Аронбаев С.Д. Биосорбция тяжелых металлов клеточными оболочками дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* / С.Д. Аронбаев, А.М. Насимов, Д.М. Аронбаев // Всероссийский журнал научных публикаций. 2011. № 3. С. 13-15.

12. Насимов А.М. Биосорбционное концентрирование тяжелых металлов / А.М. Насимов, С.Д. Аронбаев // Тез. докл. IV Международной конференции «Экстракция органических соединений» ЭОС-2010. Воронеж: ВГТА, 2010. С. 321.

13. Аронбаев С.Д. Компьютеризированный аналитический комплекс для инверсионной вольтамперометрии на базе универсального полярографа ПУ-1 / С.Д. Аронбаев, А.М. Насимов, Д.М. Аронбаев, Р.Х. Насыров // Научный вестник СамГУ. 2009. № 1 (53). С. 47-50.

14. Патент РУз № 04712. Угольно-пастовый электрод / М.М. Табачников, С.В. Олихова, А.М. Геворгян, Э. Жожкун. 7G01 №27/30 INDP 9900590.1 // Расмий ахборотнома. 2001. № 2 (34). С. 62-63.

15. Аронбаев С.Д. Клеточные оболочки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* как сорбен-

Ключевые слова:

тяжелые металлы,
кадмий,
свинец,
медь,
инверсионно-
вольтамперо-
метрическое
определение,
сточные и питьевые
воды,
биосорбция,
клеточные стенки
дрожжей

ты тяжелых металлов // Научный вестник СамГУ. 2010. № 3 (61). С.45-49.

16. Аронбаев С.Д. Биосорбционное концентрирование тяжелых металлов клеточными оболочками пивоваренных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. / С.Д. Аронбаев, А.М. Насимов, Н.А. Парпиев, Д.М. Аронбаев // Доклады академии наук Республики Узбекистан. 2011. № 3. С. 58-60.

17. Аронбаев С.Д. Сорбционно-аналитические свойства клеточных оболочек дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* / С.Д. Аронбаев, А.М. Насимов, Д.М. Аронбаев // Тез. докл. XIX Менделеевского съезда по общей и прикладной химии. Волгоград: ВГТУ, 2011. Т. 4. С. 314.

18. ГОСТ Р 52180-2003. Вода питьевая: Определение содержания элементов методом инверсионной вольтамперометрии. М.: Росгосстандарт. 2004. 20 с.

19. Слепченко Г.Б. Электрохимический контроль качества вод (обзор) / Г.Б. Слепченко, Н.П. Пикула, Н.М. Дубова, Т.И. Щукина, О.С. Жаркова // Известия Томского политехнического университета. 2009. Т. 314. № 3. С.59-70.

20. Сырьё и продукты пищевые. Методы определения токсичных элементов. Государственные стандарты СССР. М.: Росгосстандарт. 1986.

21. Насимов А.М. Механизм биосорбционного взаимодействия клеточных оболочек пивоваренных дрожжей с ионами тяжелых металлов / А.М. Насимов, С.Д. Аронбаев, З.Х. Холмурадова // Научный вестник СамГУ. 2010. № 3 (61). С. 49-54.

S.D. Aronbaev, A.M. Nasimov, D.M. Aronbaev

CELLULAR WALLS OF YEAST FOR HEAVY METALS SORPTION IN WASTE AND POTABLE WATER BY STRIPPING VOLTAMMETRY

The possibility of biosorption concentration of low maintenances of heavy metals in waste and drinking water for their subsequent definition by stripping voltammetry has been shown.

Key words: heavy metals, cadmium, lead, copper, stripping definition, voltammetry, waste and potable water, biosorption, cellular walls of yeast

