بررسی تحمل و جذب فلزات مس و سرب توسط سه سویه استاندارد مخمر

علیرضا حسنی، زهرا اعتمادی فر* و ایرج نحوی

اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۴

چکیده

آلودگی محیط زیست توسط فلزات سنگین به یکی از جدی‌ترین معضلات زیست محیطی امروز تبدیل شده است. در طی سالیان گذشته روشهای مختلف فیزیکی و شیمیایی برای پاکسازی فلزات سنگین مورد بررسی قرار گرفته‌اند، اما اکثر آنها مشکل، گران و انرژی بر هستند. استفاده از میکروارگانیزم‌ها برای جذب فلزات سنگین، می‌تواند جایگزینی مناسب برای این روشها باشد. در این تحقیق از سه مخمر استاندارد Saccharomyces cerevisiae PTCC 5052 ، Kluyveromyces marxianus DSMZ 5422، Yarrowia lipolytica DSMZ 8218، برای بررسی مقاومت نسبت به غلظتهای مختلف فلزات سنگین مس و سرب استفاده شد. مقاومت بیشتری نسبت به مس (یاروویا لیپولیتیکا تا ۶ میلی‌مول، کلویورومایسز مارکسیانوس تا ۵ میلی‌مول و ساکارومایسز سرویزیه تا ۱ میلی‌مول) و مقاومت کمتری نسبت به سرب (هر سه مخمر تا غلظت ۲ میلی‌مول) مشاهده شد. سپس بر اساس مقاومتهای مشاهده شده توانایی مخمرها در جذب این فلزات سنگین مورد آزمایش قرار گرفت. میزان جذب مخمرها در غلظتهایی که به آن حساس بودند بالاتر و در غلظتهایی که به آنها مقاوم بودند، کمتر مشاهده شد. بیشترین میزان فلزات جذب شده توسط مخمر ساکارومایسز سرویزیه شامل مس (۱۶/۸ میلی‌گرم برگرم وزن خشک) و سرب (۵۴/۶)، در مخمر کلویورومایسز مارکسیانوس شامل مس (۷۵/۵) و سرب (۶۷/۴)، و در مخمر یاروویا لیپولیتیکا شامل مس (۶۹) و سرب (۶۹/۶) بود. در آزمایش بررسی اثر گلوکز روی جذب در غلظتهای پایین مشاهده شد که گلوکز روی جذب سطحی بی‌اثر است ولی روی جذب داخلی مؤثر و باعث افزایش آن می‌گردد، زیرا جذب داخلی فرآیندی وابسته به انرژی و جذب سطحی مستقل از انرژی است.

واژه های کلیدی: مخمر، فلزات سنگین، جذب زیستی، مقاومت به فلزات سنگین، جذب اتمی.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۳۷۹۳۲۴۵۶-۰۳۱ ، پست الکترونیکی: z_etemadifar@yahoo.com

مقدمه

یکی از بزرگترین مشکلات جوامع بشری در قرن بیست و یکم آلودگیهای محیطی است. از مهم ترین این آلوده کننده‌ها فلزات سنگین هستند که مقدار آنها در محیط با توجه به استخراج روزافزون آنها، در حال افزایش است. فلزات سنگین با ورود به محیط وارد چرخه‌ای می‌شوند که طی آن بین محیط و موجودات زنده مورد تبادل قرار می‌گیرند و اثرات سمی بر موجودات زنده می‌گذارند، تجمع زیستی در هر مرحله‌ای از زنجیره غذایی می‌تواند اتفاق بیفتد، این مشکل به خصوص برای انسان به عنوان مصرف کننده نهایی از اهمیت خاصی برخوردار است. اگر تجمع زیستی در یکی از ارگانهای بدن انسان اتفاق بیفتد، علایم زیان‌آور مختلفی مثل علائم گوارشی، عصبی و ایمونولوژیکی بروز پیدا می‌کنند. از آنجا که این فلزات تجزیه پذیر نیستند تنها راه پاکسازی آنها خارج کردن آنها از محیط و بازیابی و استفاده مجدد از آنها در صورت امکان است(۵). روشهای مختلف فیزیکی و شیمیایی مانند اسمز معکوس، دیالیز، تشعشع گاما، اولترا فیلتراسیون، رسوب لخته‌ای، استخراج حلال، اکسیداسیون(توسط ازون

و پراکسید هیدروژن)، هیدرولیز، الکترولیز، تیمار کروم و کروماتوگرافی برای پاکسازی فلزات سنگین مورد بررسی و آزمایش قرار گرفته‌اند، اما اکثر آنها مشکل، پرخطر، پیچیده و ناکامل، گران و انرژی بر هستند. استفاده از میکروارگانیزم‌ها برای جذب فلزات سنگین، می‌تواند جایگزینی مناسب برای روشهای فوق باشد، زیرا یا از ارگانیزم‌هایی استفاده می‌شود که فراوان هستند، مثل علف دریایی، و یا از زیست توده دورریز کارخانه‌های تخمیری استفاده می‌گردد (۱۲).

مس کوفاکتور ضروری بسیاری از آنزیمهای مختلف است که این آنزیمها در واکنشهایی مثل تنفس، از بین بردن رادیکالهای آزاد، هموستازی آهن نقش دارند. مقادیر اضافی مس موجب تولید گونه‌های فعال اکسیژن از طریق واکنش فنتون می‌شود، اتصال فلزات را مختل می‌کند، به طور نامناسبی به پروتئینها متصل می‌شود و هموستازی را بر هم می‌زند (۲۶). در میکروارگانیزم‌ها نمکهای مس فراوانی نوکلئوتیدهای اشتباه در جریان همانندسازی DNA را افزایش می‌دهند. مس به راحتی با رادیکالها از جمله رادیکالهای اکسیژن برهمکنش می‌کند و این امر باعث سمی شدن آن می‌شود. اساس سمیت مس نسبت به میکروارگانیزم‌ها تولید رادیکالهای هیدروپراکسید و برهمکنش با غشاء از طریق اتصال به ترکیبات تیول دار است (۱۶).

در یوکاریوتها میزان مس از طریق سیستمهای دریافت و خروج خاص کنترل می‌شود. مس حاصل از فرآیندهای آنابولیکی به پروتئینهای چاپرون درون سیتوزول متصل می شود که این امر جلوی فعالیتهای مخرب آن‌را می‌گیرد (۲۰). مس مازاد توسط ATPaseهای نوع P به خارج سلول فرستاده می‌شود، این نوع پروتئینها در همه فرمانروهای حیات وجود دارند (۲۲).

در مخمر مس به ترکیبات مختلفی متصل می‌شود، بخشی از آن با اتصال به گلوتاتیون ترکیب مس-گلوتاتیونات را تشکیل می‌دهد و متالوتیونین‌های مخمر مثل Cup1p و Crs5p نیز به یونهای موجود متصل شده و مس را برای تولید آنزیمهایی مثل سیتوکروم c اکسیداز ذخیره می‌کند (۱۹).

انحلال‌پذیری پایین سرب باعث شده که این فلز از نظر زیستی کمتر در دسترس باشد و همین امر موجب حساسیت بسیاری از میکروارگانیزم‌ها نسبت به این فلز است. سرب به گروههای سولفیدریل پروتئینهای مختلف متصل می‌شود و جلوی عملکرد زیستی و متابولیکی آنها را می‌گیرد، بنابراین پروتئینهای دارای گروههای سولفیدریل آزاد نسبت به سرب آسیب‌پذیرند (۱۸).

ساکارومایسز سرویزیه مدل ایده‌آلی برای مطالعات جذب در سطح مولکولی است و به فهم بهتر این مکانیزمها کمک می‌کند، زیرا توالی ژنومی آن در دسترس بوده و دستکاری ژنتیکی آن ساده است (۲۷). مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* هم از محلهای آلوده به فلزات سنگین جدا شده است و توانایی مقاومت در برابر فلزات سنگین، نمک‌ها و دیگر آلوده-کننده‌ها را دارد. مکانیزمهای مقاومت و سمیت‌زدایی فلزات سنگین که توسط سویه‌های مختلف *یاروویا لیپولیتیکا* به کار می‌روند بررسی و مطالعه شده است. از مکانیسمهای فوق تولید ملانین و سوپراکسید دیسموتاز واجد روی است که در مقاومت نسبت به فلز مس مشخص شده است. منحنی رشد *یاروویا لیپولیتیکا* در حضور ۴-۲ میلی‌مول فلز مس تقریباً بی‌تغییر باقی می‌ماند و تنها فاز تأخیری اندکی طولانی‌تر می‌شود و در سیتوسل این سلولها مقدار اندکی فلز مس مشاهده می‌شود که دلیل این امر احتمالاً وجود سیستم ترشح به خارج فلز در این مخمر است. این سیستمها بر اثر قرار گرفتن در معرض مقادیر مشخصی از فلز مربوطه القاء شده و فلز را به خارج سلول می‌رانند. تولید دائمی مقادیر پایه‌ای از رنگدانه قهوه‌ای ملانین که نقش مهمی در اتصال و جمع‌آوری فلز مس دارد نیز از دلایل مقاومت سلولهای *یاروویا لیپولیتیکا* به مس است.

دیواره سلولی نیز نقش مهمی در جلوگیری از ورود مس و سایر فلزات سنگین به درون سلول دارد. به علاوه مقادیر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز واجد روی در درون سلولها افزایش یافته زیرا این آنزیم سلول را در مقابل گونه‌های فعال اکسیژن که با حضور فلز در سلول ایجاد می‌شوند، محافظت می‌کند (۳).

ژن *crf1* فاکتور رونویسی Crf1 را در *یاروویا لیپولیتیکا* کد می‌کند، این فاکتور در سیتوسل سلول قرار دارد و دیده شده که در پاسخ به مقادیر بالای مس به درون هسته منتقل می‌شود تا موجب بیان برخی ژنها در رابطه با مقاومت به مس شود. از آنجا که رابطه میان این فاکتور با متالوتیونین‌ها و سوپراکسید دیسموتاز که نقش مهمی در مقاومت به مس دارند مشخص نشده است، بنابراین پیشنهاد شده که احتمالاً این فاکتور از طریق مکانیزم دیگری در سم‌زدایی فلزات موثر است (۳).

مشخص شده که غشاء و دیواره سلولی محلهای عمده تجمع مقادیر اضافی یونهای فلزی هستند. همچنین در بررسی هر فلز، رابطه معکوسی میان سمیت آن فلز و مقدار متالوتیونین تولید شده توسط سلول برقرار بود. در پاسخ به فلزات سمی متالوتیونین بیشتری تولید شده و در نتیجه مقدار آن فلز در سلول کمتر بود و بالعکس مقدار فلزات غیر سمی در سلول بیشتر و متالوتیونین تولید شده در پاسخ به آنها کمتر بود. این شواهد نشان‌دهنده اهمیت متالوتیونین‌ها در سم‌زدایی فلزات سنگین است (۲۴).

در این تحقیق از سه مخمر استاندارد PTCC 5052 *Saccharomyces cerevisiae*، DSMZ 8218 *Yarrowia lipolytica*، DSMZ 5422 *Kluyveromyces marxianus* استفاده شد. اهدافی که در این تحقیق بررسی شدند عبارتند از بررسی مقاومت سویه‌های مخمری موجود نسبت به فلزات سنگین، بررسی میزان جذب فلزات سنگین توسط سویه‌های مخمری موجود، بررسی رابطه تحمل و جذب فلزات سنگین توسط مخمرها و همچنین بررسی اثر وجود و عدم وجود منبع انرژی بر فرآیند جذب.

مواد و روشها

محیطهای کشت مورد استفاده : برای کشت مخمر از محیط کشت YPD براث و YPD آگار استفاده شد. این محیط کشت حاوی عصاره مخمر، پپتون و گلوکز است. عصاره مخمر و پپتون کربن، نیتروژن، مواد معدنی، ریز مغذیهای مورد نیاز برای رشد مخمرها را فراهم می‌کنند. گلوکز نیز منبع انرژی محیط است. به منظور تهیه این محیط کشت ۵۰ گرم پودر خشک محیط کشت در یک لیتر آب مقطر حل و سپس در ۱۱۰ درجه سانتی گراد در فشار یک بار به مدت۱۰ دقیقه اتوکلاو گردید.

تعیین منحنی رشد مخمرها جهت شناسایی زمان انتهای فاز لگاریتمی: به منظور تعیین منحنی رشد استاندارد مخمرها، کشت شبانه‌ای از مخمرها در محیط کشت YPD براث تهیه گردید و ۱ میلی‌لیتر از آن با کدورت ۰/۵ مک-فارلند در ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط YPD براث تلقیح گردید. سپس به مدت ۴۸ ساعت در ۱۲۰ دور در دقیقه شیکر شد و جذب نوری هر ۴ ساعت یک بار در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد.

سنجش مقاومت مخمرها نسبت به فلزات سنگین: برای سنجش مقاومت مخمرها نسبت به فلزات سنگین از میکروپلیت‌های ۹۶ چاهک استفاده شد و منحنی رشد مخمرها در حضور غلظتهای مختلف فلز رسم شد. در هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر محلول شامل سوسپانسیون مخمری، محیط کشت YPD براث و محلول فلزی ریخته شد. چاهک ابتدای هر ردیف به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد و فلز به آن اضافه نشد تا میزان رشد مخمرها در چاهکهای دارای فلز با آن مقایسه شود. با پیشروی در هر ردیف غلظت فلز افزایش داده شد. چاهک انتهای هر ردیف به عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد و صرفاً

حاوی محیط کشت بود. یک ردیف از چاهکها به عنوان شاهد و به ازای هر غلظت فلز یک چاهک فاقد مخمر در نظر گرفته شد تا بتوان کدورت حاصل از محیط کشت و محلول فلز را از کدورت حاصل از رشد مخمرها تمیز داد. چاهکها توسط سمپلر و در زیر هود بیولوژیک پر شدند. برای تلقیح چاهکهای میکروپلیت از مخمرهای انتهای فاز لگاریتمی معادل کدورت ۰/۵ مک‌فارلند استفاده شد. در هر چاهک ۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون مخمری، ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت و ۵۰ میکرولیتر محلول فلزی با غلظت مورد نظر اضافه شد. سپس میکروپلیت در انکوباتور در دمای ۲۸ درجه قرار داده شد و در ۲۴ و ۴۸ ساعت در دستگاه الایزا ریدر خوانده شد و میزان کدورت چاهکهای نمونه نسبت به چاهکهای شاهد مشخص شد. چاهکهایی که دارای ۸۰ درصد رشد چاهک شاهد مثبت بودند به عنوان مقاوم در نظر گرفته شدند. از چاهکهایی که رشدی کمتر از ۸۰ درصد چاهک کنترل مثبت داشتند، به وسیله لوپ نمونه برداری شد و به صورت جداگانه در پلیتهای حاوی محیط کشت YPD آگارکشت داده شد. پلیتها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت۲ روز انکوبه شدند. غلظتهایی که مخمر آنها رشد کرد به عنوان غلظت متوقف کننده رشد قارچ و غلظتهایی که مخمر آنها رشد نکرده بود به عنوان غلظت کشنده قارچ در نظر گرفته شدند (۱۴ و ۲۵).

بررسی میزان جذب فلز در مخمرها بر اساس غلظتهای مقاومت آنها: در این آزمایش به منظور بررسی رابطه مقاومت و جذب فلزات سنگین از غلظتهای به دست آمده در آزمایش سنجش مقاومت استفاده شد. سه غلظت از هر فلز به‌کار رفت، که شامل بالاترین غلظت تحمل شده در مرحله قبل و دو غلظت مجاور آن بودند. برای بررسی میزان جذب فلزات سنگین توسط مخمرها، ۲۰ میلی‌لیتر از مخمرهای انتهای فاز لگاریتمی در دو فالکون ۱۵ میلی-لیتری ریخته شد و سپس به مدت ۳ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. مخمرهای سانتریفیوژ شده با سرم فیزیولوژی استریل شستشو داده شد و مجدداً ۳ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند (۲ و ۸). در این مرحله ۲ فالکون نیز جهت تعیین وزن خشک مخمرها به همین صورت آماده شدند. سپس با اضافه کردن ۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل به هر فالکون و هم زدن روی دستگاه همزن محتویات فالکونها به صورت همگن درآمدند. سوسپانسیون حاصل به ارلن ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۴۳ میلی‌لیتر آب مقطر دوبار تقطیر استریل اضافه شد و حجم کلی آن به ۴۵ میلی‌لیتر رسید. فرآیندهای ذکر شده برای ۲ ارلن بطور یکسان انجام گرفت و ارلن دیگری با محتویات یکسان و بدون اضافه کردن مخمر بعنوان شاهد در نظر گرفته شد. ارلن‌های مذکور سپس به مدت۲۰ دقیقه در ۱۲۰ دور در دقیقه روی دستگاه همزن قرار گرفتند. بعد از ۲۰ دقیقه ۲ میلی‌لیتر محلول گلوکز استریل ۱,۲۵ مولار به هر ارلن اضافه شد تا غلظت گلوکز در حجم نهایی به ۵۰ میلی‌مولار برسد. سپس ارلنها برای مدت ۱۰ دقیقه دیگر در ۱۲۰ دور در دقیقه روی دستگاه هم‌زن باقی ماندند (۱۵و ۲۸). بعد از ۱۰ دقیقه به هر ارلن ۳ میلی‌لیتر از محلول فلزی با غلظت مورد نظر اضافه شد تا حجم کلی به ۵۰ میلی‌لیتر برسد. سپس pH روی ۵/۵ تنظیم گردید. لحظه اضافه شدن فلز به عنوان زمان صفر در نظر گرفته شد و ارلنها به مدت۶۰ دقیقه روی همزن در ۱۲۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. در دقایق ۰ و ۱۰ و ۶۰ از هر ارلن ۱۰ میلی‌لیتر به درون فالکونهای ۱۵ میلی‌لیتری ریخته شد وفالکونهای مذکور بلافاصله در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سوپرناتانت حاصل به درون فالکونهای دیگری ریخته شد (۱۱و ۲۱). سپس به هر فالکون ۲ قطره اسید نیتریک غلیظ اضافه شد تا جهت بررسی توسط دستگاه طیف سنج جذب اتمی آماده شوند. در این تحقیق از یک دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی perkin-elmer مدل ۳۰۳۰ با سوخت استیلن استفاده شد میزان فلز جذب شده توسط مخمرها از میزان کاهش فلز در سوپرناتانت نمونه ها نسبت به شاهد، از طریق فرمول

زیر محاسبه شد :

$$q = \frac{(Ci - Cf)V}{W}$$

در فرمول ذکر شده q میزان جذب فلز بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک مخمر، V حجم محلول بر حسب لیتر، Ci و Cf غلظت اولیه و نهایی فلز بر حسب میلی‌گرم بر لیتر، W وزن خشک مخمرها بر حسب گرم است (۶).

بررسی میزان جذب فلز در مخمرها در غلظتهای پایین همراه با بررسی اثر گلوکز: برای این منظور از غلظتهای ۲۰ppm فلزات مس و سرب استفاده شد. آزمایش مانند قسمت قبلی انجام شد و به هر مخمر ۲ فلز به صورت جداگانه اضافه شد اما این بار تعداد ارلنها دو برابر شد و به نیمی از آنها گلوکز اضافه نشد تا بتوان اثر گلوکز در نحوه جذب را بررسی کرد.

اندازه گیری وزن خشک مخمرها در آزمایش جذب: برای اندازه گیری میزان وزن خشک اضافه شده مخمرها در آزمایش بررسی میزان جذب فلز، هنگام سانتریفیوژ کردن مخمرهای انتهای فاز لگاریتمی جهت انجام آزمایش جذب، ۲ فالکون اضافه آماده شدند. سپس این دو فالکون به مدت۲۴ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه قرار گرفتند تا آب آنها تبخیر شود. سپس وزن بدست آمده این فالکونها از وزن اولیه آنها کاسته شد و وزن خشک مخمرهای اضافه شده در آزمایش جذب مشخص شد (۶).

نتایج

تعیین منحنی رشد مخمرها جهت شناسایی زمان انتهای فاز لگاریتمی: انتهای فاز لگاریتمی در مخمر *ساکارومایسز سرویزیه* ۳۶ ساعت، در مخمر *کلویورومایسز مارکسیانوس* ۳۴ ساعت و در مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* حدود ۴۰ ساعت بود.

سنجش مقاومت مخمرها به فلزات سنگین:

الف)مقاومت به فلز مس: بیشترین مقاومت به فلز مس در مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* مشاهده شد که برابر با ۶ میلی‌مولار (۳۸۰ میلی گرم بر لیتر) بود. مخمر مقاوم بعدی *کلویورومایسز مارکسیانوس* بود که مقاومتی برابر ۵ میلی-مولار (۳۱۰ میلی گرم بر لیتر) داشت. کمترین مقاومت نیز در مخمر *ساکارومایسز سرویزیه* مشاهده شد که حداکثر مقاومت آن برابر با ۱ میلی‌مولار(۶۳ میلی‌گرم بر لیتر) بود. در مورد *ساکارومایسز سرویزیه* غلظت ۱/۵ میلی‌مولار غلظت متوقف کننده رشد و غلظت ۲ میلی‌مولار و بالاتر غلظت کشنده بودند. در مورد *کلویورومایسز مارکسیانوس* غلظت ۶ میلی‌مولار و بالاتر غلظت متوقف کننده رشد بودند. در مورد *یاروویا لیپولیتیکا* غلظتهای ۷ و ۸ میلی-مولار متوقف کننده رشد بودند.

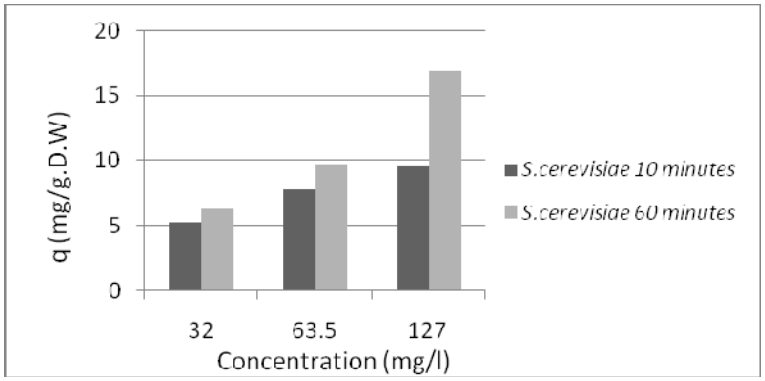
ب) مقاومت به فلز سرب: در مورد فلز سرب تقریبا الگوی مقاومتی یکسانی بین مخمرها مشاهده شد. هر سه مخمر تا غلظت ۲ میلی‌مولار (۴۱۰ میلی گرم بر لیتر) از خود مقاومت نشان دادند. غلظتهای بالاتر تا ۷ میلی‌مولار نیز نسبت به هر سه مخمر متوقف کننده رشد بودند.

میزان جذب فلز در مخمرها بر اساس غلظتهای مقاومت آنها:

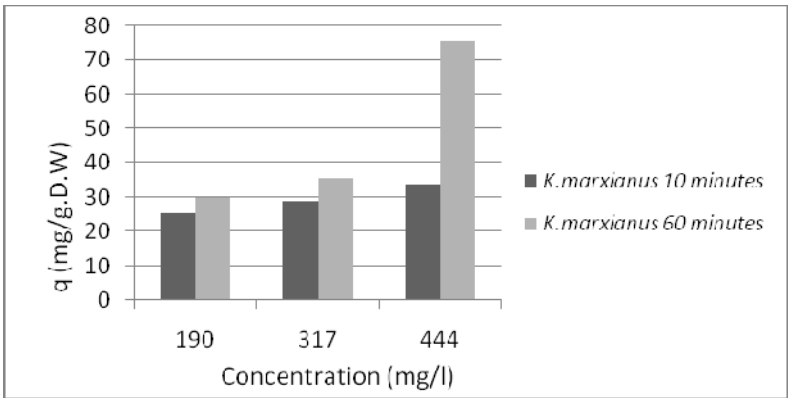
الف) جذب فلز مس: با توجه به مقاومتهای مشاهده شده در اندازه‌گیری مقاومت مخمرها، غلظتهای ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار (معادل ۶۳/۳۲،۵ و ۱۲۷ میلی‌گرم بر لیتر) برای مخمر *ساکارومایسز سرویزیه* در نظر گرفته شدند. بیشترین جذب مشاهده شده ۱۶/۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک است که در غلظت ۱۲۷ میلی گرم بر لیتر و در زمان ۶۰ دقیقه مشاهده شد (شکل ۱).

غلظتهای در نظر گرفته شده برای مخمر *کلویورومایسز مارکسیانوس* ۳، ۵ و ۷ میلی‌مولار (معادل ۱۹۰، ۳۱۷ و ۴۴۴ میلی‌گرم بر لیتر) بودند. بیشترین جذب مشاهده شده ۷۵/۷

میلی‌گرم بر گرم وزن خشک است که در غلظت۴۴۴ میلی گرم بر لیتر و در زمان ۶۰ دقیقه مشاهده شد (شکل ۲).

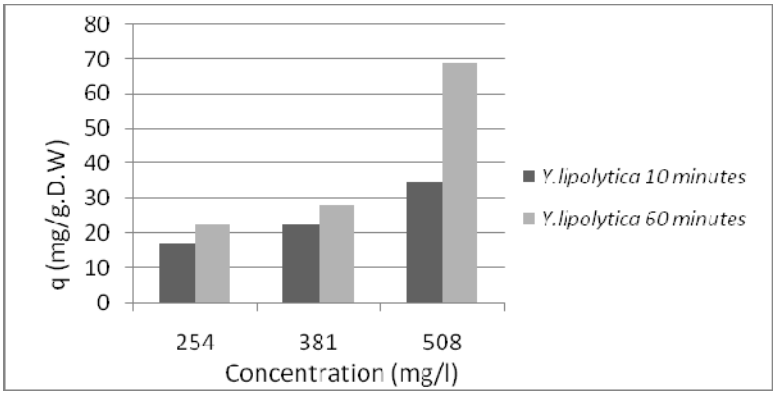


شکل ۱- میزان جذب غلظتهای مختلف فلز مس توسط مخمر *ساکارومایسز سرویزیه* در زمانهای ۱۰ و ۶۰ دقیقه



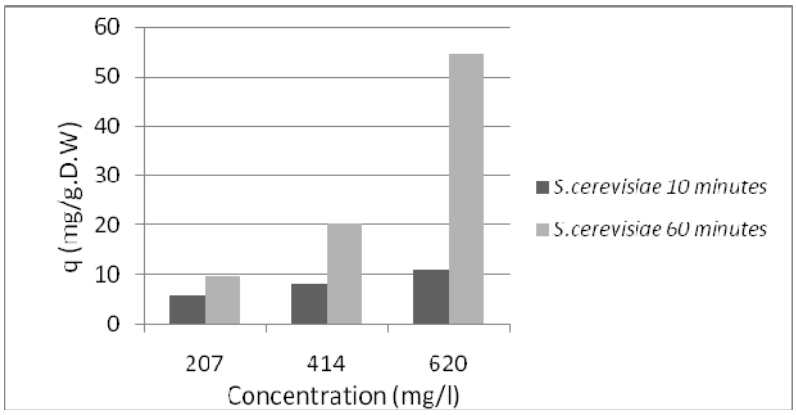
شکل ۲- میزان جذب غلظتهای مختلف فلز مس توسط مخمر *کلویورومایسز مارکسیانوس* در زمانهای ۱۰ و ۶۰ دقیقه

غلظتهای به کار رفته برای مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* شامل ۴،۶ و ۸ میلی‌مولار (معادل ۲۵۴، ۳۸۱ و ۵۰۸ میلی‌گرم بر لیتر) بود. بیشترین جذب مشاهده شده این مخمر ۶۹ میلی-گرم بر گرم وزن خشک است که در غلظت ۵۰۸ میلی گرم بر لیتر و در زمان ۶۰ دقیقه مشاهده شد (شکل ۳).



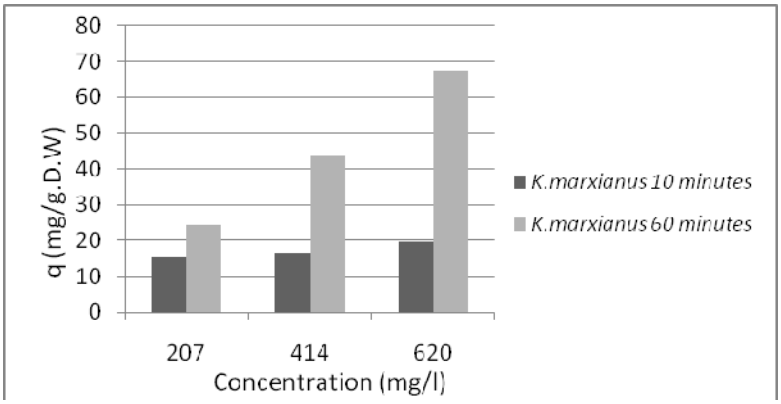
شکل ۳- میزان جذب غلظتهای مختلف فلز مس توسط مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* در زمانهای ۱۰ و ۶۰ دقیقه

ب) جذب فلز سرب: با توجه به نتایج آزمایش مقاومت غلظتهای یکسانی در مورد هر سه مخمر به کار رفت. این غلظتها شامل ۱، ۲ و ۳ میلی مولار (۲۰۷، ۴۱۴ و ۶۲۰ میلی‌گرم بر لیتر) بود. در مخمر *ساکارومایسز سرویزیه* بیشترین جذب معادل ۵۴/۶ میلی گرم بر گرم وزن خشک بود که در غلظت ۶۲۰ میلی‌گرم بر لیتر فلز سرب مشاهده شد (شکل ۴).



شکل ۴- میزان جذب غلظتهای مختلف فلز سرب توسط مخمر *ساکارومایسز سرویزیه* در زمانهای ۱۰ و ۶۰ دقیقه

الگوی جذب در مخمر *کلویورومایسز مارکسیانوس* نیز تقریبا شبیه به *ساکارومایسز سرویزیه* است. بیشترین میزان جذب سرب برابر با ۶۷/۴ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود که در غلظت ۶۲۰ میلی‌گرم بر لیتر صورت گرفت (شکل ۵).



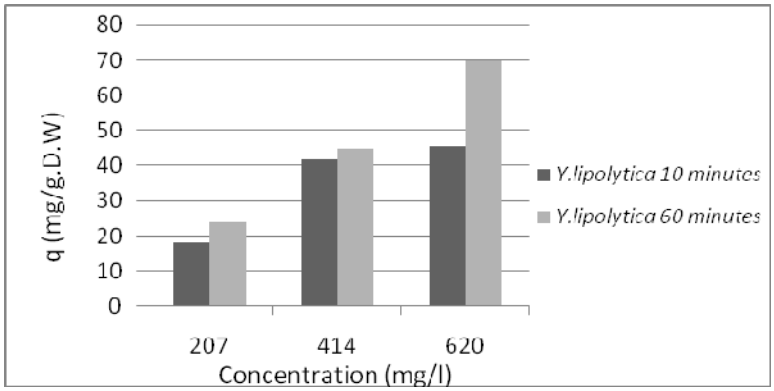
شکل ۵- میزان جذب غلظتهای مختلف فلز سرب توسط مخمر *کلویورومایسز مارکسیانوس* در زمانهای ۱۰ و ۶۰ دقیقه

الگوی جذب سرب در مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* با دو مخمر دیگر تفاوت داشت. با افزایش غلظت فلز میزان جذب سطحی ابتدا افزایش داشت و بعد متوقف شد و جذب داخلی که با افزایش غلظت اول زیاد نشده بود، با افزایش غلظت دوم به طور محسوسی زیاد شد. بیشترین میزان فلز سرب جذب شده توسط این مخمر ۶۹/۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود که در بالاترین غلظت مشاهده شد (شکل ۶).

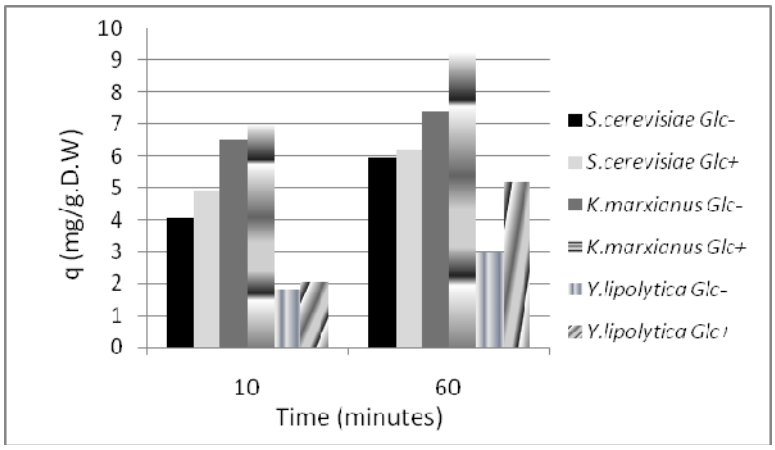
میزان جذب فلز در مخمرها در غلظتهای پایین همراه با بررسی اثر گلوکز:

الف) جذب فلز مس: برای تمام مخمرها از غلظت ۲۰ppm فلز مس استفاده شد. بیشترین جذب در بین سه مخمر، در *کلویورومایسز مارکسیانوس* در زمان ۶۰ دقیقه و در شرایط دارای قند معادل ۹/۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک مشاهده شد (شکل ۷). به طور کلی در حالت دارای قند جذب بیشتری مشاهده شد اما این افزایش در زمان ۶۰ دقیقه که جذب داخلی نیز صورت گرفته بیشتر بود که به دلیل وابسته بودن جذب داخلی به انرژی بود.

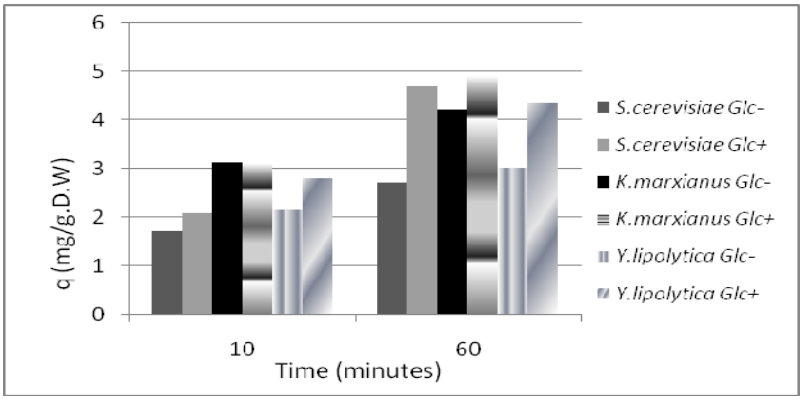
ب) جذب فلز سرب: غلظت ۲۰ ppm سرب برای هر سه مخمر به کار رفت. بیشترین جذب فلز سرب در مخمر *کلویورومایسز مارکسیانوس* در زمان ۶۰ دقیقه و شرایط دارای قند دیده شد که معادل ۴/۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود (شکل ۸). الگوی جذب تقریباً مشابه فلز مس بود و در زمان ۶۰ دقیقه اثر گلوکز نمایان‌تر بود.



شکل ۶- جذب غلظتهای مختلف فلز سرب توسط مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* در زمانهای ۱۰ و ۶۰ دقیقه



شکل ۷- میزان جذب غلظت ۲۰ ppm فلز مس توسط سه مخمر *ساکارومایسز سرویزیه*، *کلویورومایسز مارکسیانوس* و *یاروویا لیپولیتیکا* در زمانهای ۱۰ و ۶۰ دقیقه



شکل ۸- میزان جذب غلظت ppm ۲۰ فلز سرب توسط سه مخمر *ساکارومایسز سرویزیه*، *کلویورومایسز مارکسیانوس* و *یاروویا لیپولیتیکا* در زمانهای ۱۰ و ۶۰ دقیقه

بحث

مقاومت مخمرها نسبت به فلزات سنگین: با توجه به نتایج آزمایش سنجش مقاومت مخمرها نسبت به فلز مس مقاوم‌ترین مخمر به فلز مس مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* بود. این مخمر تا غلظت ۶ میلی‌مولار فلز مس از خود مقاومت نشان داد و به خوبی رشد کرد و در غلظتهای ۷ و ۸ میلی-مولار رشد آن متوقف شد، اما مخمرها از بین نرفتند و در محیط فاقد مس توانستند به رشد خود ادامه دهند. مخمر *کلویورومایسز مارکسیانوس* نیز مقاومت خوبی تا غلظت ۵ میلی‌مولار از خود نشان داد ولی در غلظتهای بالاتر رشد آن متوقف شد. حساس‌ترین مخمر نسبت به فلز مس مخمر *ساکارومایسز سرویزیه* بود که تنها تا غلظت ۱ میلی‌مولار مس را تحمل کرد و رشد در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار متوقف شد و در غلظتهای بالاتر مخمر از بین رفت و در محیط فاقد مس هم رشد نکرد. وادکرتیووا و اسلاویکوا در سال ۲۰۰۶ مقاومت چند سویه *ساکارومایسز سرویزیه* نسبت به مس را بین ۲-۰/۵ میلی‌مولار گزارش کردند (۲۵). همچنین ایتو و همکاران در سال ۲۰۰۷ حضور ۴-۲ میلی-مولار مس را بر سرعت رشد *یاروویا لیپولیتیکا* بی‌تأثیر گزارش کردند. آنها همچنین گزارش کردند که دلیل این مقاومت یک سیستم ترشحی فلز است که بر اثر قرار گرفتن مخمر در معرض غلظتهای خاصی از فلز مس القاء می‌شود. همچنین افزایش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را که گونه‌های فعال اکسیژن را از بین می‌برد دلیل دیگر این مقاومت می‌دانند (۹).

مقاومت هر سه مخمر به فلز سرب تقریباً یکسان بود و هر سه مخمر تا غلظت ۲ میلی‌مولار این فلز رشد خوبی داشتند و در غلظتهای بالاتر رشد آنها متوقف شد. بردیسوسکی و همکاران در سال ۱۹۹۳ مقاومت یک سویه از *ساکارومایسز سرویزیه* نسبت به فلز سرب را حدود ۱ میلی‌مولار گزارش کردند (۴).

رابطه مقاومت و جذب فلزات سنگین: در مرحله تعیین مقاومت سویه‌های مخمری به‌کار رفته نسبت به فلزات سنگین، مقاومتهای مختلف و مشابهی نسبت به فلزات مختلف مشاهده شد. با به کار بردن غلظتهای مختلف تحمل شده و تحمل نشده از سوی مخمرها سعی شد تا به مکانیزم مقاومت پی برده شود. مخمرهای استفاده شده در آزمایشات جذب در انتهای فاز لگاریتمی قرار داشتند.

با مشاهده نمودارهای جذب فلز موجود در بخش نتایج سه قاعده کلی مشاهده می‌شود. اول آنکه جذب فلزات دو مرحله‌ای است یک مرحله سریع که در ۱۰ دقیقه اول اتفاق افتاده و بیانگر جذب سطحی است و مرحله دوم که از زمان ۱۰ دقیقه تا ۶۰ دقیقه اتفاق افتاده و عموماً بیانگر جذب داخلی است. یافته‌های هان و همکاران با انجام

آزمایش جذب فلزات مس و سرب توسط مخمر آبجو این مسئله را تأیید می‌کند. آنها مشاهده کردند که سرعت جذب در ۱۰ دقیقه ابتدایی بالاست و جذب تا زمان ۶۰ دقیقه ادامه می‌یابد (۷).

نکته دوم آنکه با افزایش غلظت فلز میزان جذب سطحی و داخلی افزایش یافته است. کامب هونجو و همکاران تاثیر افزایش غلظت اولیه فلزات را بر افزایش میزان جذب آنها توسط سلولهای مخمر نشان دادند (۱۱). همچنین وانگ و چن اشاره کرده اند که افزایش غلظت اولیه فلز در شرایط یکسان بودن وزن خشک مخمر بکار رفته، موجب افزایش میزان جذب فلز می‌شود (۲۷).

سوم آنکه میزان جذب داخلی در زمان ۶۰ دقیقه در غلظتی که مخمر به آن حساس بوده بیشتر است، پس می‌توان گفت علت حساسیت مخمر به آن غلظت خاص فلز به دلیل ورود بیش از حد فلز به درون مخمر است. در نتیجه یکی از مکانیزمهای اصلی مقاومت به فلزات سنگین می-تواند جلوگیری از ورود این فلزات به درون سلول باشد. البته در غلظتهای پایین مخمرها با استفاده از سیستمهای مختلف ترشحی، متالوتیونین‌ها و فسفاتازهای نوع p و... فلزات را از درون سیتوپلاسم خود بیرون می‌رانند اما با افزایش غلظت این امر مشکل‌تر می‌شود و در نتیجه رشد مخمرها کاهش یافته و متوقف می‌شود. وجود فلزات سمی با غلظتهای بالا فرآیندهای مختلف سلول را متوقف کرده و موجب مرگ سلولها می‌شود. جوهو و همکاران با بررسی جذب کادمیم در دو سویه حساس و مقاوم *ساکارومایسز سرویزیه* مشاهده کردند که جذب در سویه حساس بیشتر است و نتیجه گیری کردند که مکانیسم مقاومت به کادمیم در سویه مقاوم کاهش میزان دریافت فلز و افزایش تعداد متالوتیونین‌های اختصاصی فلز است (۱۰).

اشتروهال و همکاران نحوه پاسخ یک سویه *یاروویا لیپولیتیکا* نسبت به ۲ فلز ضروری روی و کبالت و ۲ فلز سمی نیکل و کادمیم را بررسی کردند. مشخص شده که غشاء و دیواره سلولی محلهای عمده تجمع مقادیر اضافی این یونها هستند. همچنین در بررسی هر فلز، رابطه معکوسی میان سمیت آن فلز و مقدار متالوتیونین تولید شده توسط سلول برقرار بود. در پاسخ به فلزات سمی کادمیم و نیکل متالوتیونین بیشتری تولید شده و در نتیجه مقدار آن فلز در سلول کمتر بود و بالعکس مقدار فلزات غیر سمی در سلول بیشتر و متالوتیونین تولید شده در پاسخ به آنها کمتر بود. این شواهد نشان‌دهنده اهمیت متالوتیونین‌ها در سم‌زدایی فلزات سنگین است (۲۴).

مطابق نتایج حاصل از این آزمایش بیشترین میزان فلزات جذب شده توسط مخمر *ساکارومایسز سرویزیه* شامل مس (۱۶/۸ میلی‌گرم برگرم وزن خشک) و سرب (۵۴/۶) بود. بیشترین مقادیر فلز جذب شده توسط مخمر *کلویورومایسز مارکسیانوس* شامل مس (۷۵/۵) و سرب (۶۷/۴) بود. بیشترین مقادیر فلز جذب شده توسط مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* شامل مس (۶۹) و سرب (۶۹/۶) بود.

ژائو و دانکن مقدار جذب مس توسط سلولهای *ساکارومایسز سرویزیه* پسماند کارخانه آبجو را ۸/۱ میلی-گرم بر گرم وزن خشک و مقدار جذب روی را ۷/۱ اعلام کردند (۲۹). همچنین ژو و شو میزان جذب فلز مس برای مخمر *ساکارومایسز سرویزیه* خشک شده را بین ۱۲– ۲/۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک مخمر اعلام کردند (۳۰).

اوزر و اوزر در سال ۲۰۰۳ گزارش کردند که سلولهای *ساکارومایسز سرویزیه* کشت شده در آزمایشگاه و خشک شده در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد میزان ۲۷۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک جذب فلز سرب داشته‌اند (۱۷).

با توجه به گزارشات انجام شده و نتایج به دست آمده از این تحقیق مشخص می‌شود که مخمرهای آزمایش شده پتانسیل خوبی در جذب فلزات سنگین دارند. در کل بیشترین جذب در مخمر *کلویورومایسز مارکسیانوس* مشاهده شد و مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* نیز جذب بیشتری از *ساکارومایسز سرویزیه* از خود نشان داد که بخشی از این

تفاوتها مربوط به کار بردن غلظتهای مختلف برای مخمرهاست. همچنین می‌توان گفت مخمرهای مقاوم به فلزات لزوماً مخمرهای ایده‌آلی برای استفاده در جذب نیستند.

بررسی اثر گلوکز: نتایج آزمایش جذب در غلظت پایین در بخش نتایج آمده است. هر دو آزمایش با و بدون وجود گلوکز انجام شدند. همانند نتایج قبلی جذب دو مرحله‌ای مشاهده شد: یک مرحله سریع در ۱۰ دقیقه ابتدایی و یک مرحله کندتر بین ۱۰ تا ۶۰ دقیقه. در زمان ۱۰ دقیقه بین نمونه‌های دارای گلوکز و فاقد گلوکز اختلاف زیادی مشاهده نمی‌شود و در مواردی جذب سطحی برابر است و یا در نمونه‌های فاقد گلوکز بیشتر است. اما در زمان ۶۰ دقیقه نمونه‌های دارای گلوکز جذب بیشتری از خود نشان می‌دهند. این امر نشان‌دهنده آن است که جذب در مرحله اول عموماً سطحی و مستقل از انرژی است اما در مرحله دوم جذب داخلی و وابسته به انرژی است.

نتایج این بخش نشان داد بیشترین میزان فلزات جذب شده توسط مخمر *ساکارومایسز سرویزیه* شامل مس (۶/۲ میلی-گرم برگرم وزن خشک) و سرب (۴/۶۸) بود. بیشترین مقادیر فلز جذب شده توسط مخمر *کلویورومایسز مارکسیانوس* شامل مس (۹/۲۵) و سرب (۴/۹) بود. بیشترین مقادیر فلز جذب شده توسط مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* شامل مس (۵/۲) و سرب (۴/۳۳) بود.

استراسر و همکاران در بررسی جذب آهن و فلزات سمی توسط قارچها اشاره کرده‌اند که جذب سطحی اتصال فلز به دیواره سلولی قارچی است و انباشت زیستی جذب فلز توسط فرآیندهای وابسته به متابولیزم می باشد که ممکن است شامل انتقال فلز به داخل سلول و حجره بندی در اجزا درون سلولی باشد (۲۳).

همچنین وایت و گاد و موول و گاد به این نتیجه رسیده‌اند که جذب فلزات توسط سلول‌های قارچی در دو مرحله انجام می شود: مرحله ابتدایی که سریع و مستقل از متابولیزم سلولی انجام می‌شود و به دلیل اتصال فلز به دیواره سلولی و دیگر سطوح خارجی آن می‌باشد، که با یک مرحله جذبی کندتر و وابسته به متابولیزم سلولی ادامه می‌یابد. در مرحله اخیر یونهای فلزی از خلال غشاء پلاسمایی با مصرف انرژی به درون سلول راه می‌یابند (۲۸،۱۵).

اوری و توبین گزارش کرده‌اند که اضافه کردن گلوکز به سوسپانسیون مخمر، ۵ دقیقه قبل از اضافه کردن محلول فلز، موجب جذب فلز استرانسیم به درون واکوئل مخمرها می‌شود (۱) . ماپوللو و تورتو نیز در سال ۲۰۰۴ مشاهده کردند که پیش‌تیمار *ساکارومایسز سرویزیه* توسط گلوکز، موجب افزایش ۴۰-۳۰ درصدی جذب فلزات مس، سرب، کادمیم، کروم و روی می‌شود (۱۳).

نتیجه‌گیری کلی

فلزات سنگین از آلوده کننده‌های عمده محیط زیست در عصر حاضر هستند، این فلزات تجزیه‌ناپذیر هستند و به هر نقطه از محیط زیست و به‌خصوص سیستم آبی کره زمین که وارد شوند می‌توانند در زنجیره غذایی بالا آمده و به بدن انسان برسند، بنابراین تنها راه حل این آلودگیها جمع-آوری و بازیافت این فلزات در محلهای آلودگی است. روشهای مختلف فیزیکوشیمیایی دارای معایب مختلفی هستند و این امر باعث توجه به میکروارگانیزم‌ها به عنوان جایگزینی مناسب شده است. اگرچه چندین دهه از آغاز تحقیقات در زمینه جذب زیستی فلزات سنگین می‌گذرد و تحقیقات زیادی در این زمینه انجام گرفته است اما این فرآیند تا کاربردی شدن و فراگیر شدن همچنان فاصله زیادی دارد و تحقیقات در زمینه کاربردی کردن آن نیازمند تلاشهای فراوانی است. در این تحقیق تلاش شد تا پتانسیل جذب سه جنس مخمر که در صنعت نیز کاربرد دارند در شرایط مختلف سنجیده شود و نتایج نشان داد که این مخمرها پتانسیل خوبی در جذب فلزات سنگین در غلظتهای مختلف دارند. همچنین با توجه به اینکه اکثر

تحقیقات انجام شده روی مخمرها در زمینه جذب زیستی بر روی مخمر *ساکارومایسز سرویزیه* متمرکز بوده، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که دو مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* و *کلویورومایسس مارکسیانوس* هم پتانسیل جذب برابر یا حتی بیشتر از *ساکارومایسز سرویزیه* را دارا هستند. می‌توان امیدوار بود که با کاربردی شدن استفاده از جذب زیستی در پاکسازی فلزات سنگین در آینده، میکروارگانیزم‌های آزمایش شده در این تحقیق و سایر تحقیقات مشابه به صورت عملی در پاکسازی زمین از این آلودگی به کار روند.

تشکر و قدردانی: نویسندگان مقاله از مسئولان محترم دانشگاه اصفهان که امکان انجام این تحقیق را فراهم نمودند تشکر می‌نمایند.

منابع

1. Avery SV, Tobin JM. 1992, Mechanisms of strontium uptake by laboratory and brewing strains of *Saccharomyces cerevisiae*. Applied and Environmental Microbiology. 58(12): 3883.
2. Avery SV, Tobin JM. 1993, Mechanism of adsorption of hard and soft metal ions to *Saccharomyces cerevisiae* and influence of hard and soft anions. Applied and Environmental Microbiology. 59(9): 2851.
3. Bankar AV, Kumar AR, Zinjarde SS. 2009, Environmental and industrial applications of *Yarrowia lipolytica*. Applied microbiology and biotechnology. 84: 847-865.
4. Berdicevsky I, Duek L, Merzbach D, Yannai S. 1993, Susceptibility of different yeast species to environmental toxic metals. Environmental Pollution. 80(1): 41-4.
5. Chojnacka K. 2011, Biosorption and bioaccumulation-the prospects for practical applications. Environment international. 36(3): 299-307.
6. Göksungur Y, Üren S, Güvenç U. 2005, Biosorption of cadmium and lead ions by ethanol treated waste baker's yeast biomass. Bioresource Technology. 96(1): 103-9.
7. Han R, Li H, Li Y, Zhang J, Xiao H, Shi J. 2006, Biosorption of copper and lead ions by waste beer yeast. Journal of hazardous materials. 137(3): 1569-76.
8. Hockertz S, Schmid J, Auling G. 1987, A specific transport system for manganese in the filamentous fungus *Aspergillus niger*. Microbiology. 133(12): 3513.
9. Ito H, Inouhe M, Tohoyama H, Joho M. 2007, Characteristics of copper tolerance in *Yarrowia lipolytica*. BioMetals. 20(5): 773-80.
10. Joho M, Imai M, Murayama T. 1985, Different Distribution of Cd^{2+} between Cd-sensitive and Cd-resistant Strains of *Saccharomyces cerevisiae*. Microbiology. 131(1): 53.
11. Kambe-Honjoh H, Sugawara A, Yoda K, Kitamoto K, Yamasaki M. 1997, Isolation and characterization of nickel-accumulating yeasts. Applied microbiology and biotechnology. 48(3): 373-8.
12. Kumar KK, Prasad MK, Sarma G, Murthy CVR. 2009, Removal of Cd (II) from Aqueous Solution using Immobilized *Rhizomucor Tauricus*. Journal of Microbial & Biochemical Technology. 1: 26-27.
13. Mapolelo M, Torto N. 2004, Trace enrichment of metal ions in aquatic environments by *Saccharomyces cerevisiae*. Talanta. 64(1): 39-47.
14. Marešová L, Sychrová H. 2007, Applications of a microplate reader in yeast physiology research. BioTechniques. 43(5): 667-72.
15. Mowll J, Gadd G. 1984, Cadmium uptake by *Aureobasidium pullulans*. Microbiology. 130(2): 279.
16. Nies DH. 2003, Efflux mediated heavy metal resistance in prokaryotes. FEMS microbiology reviews. 27: 313-339.
17. Ozer A, Ozer D. 2003, Comparative study of the biosorption of Pb (II), Ni (II) and Cr (VI) ions onto *S. cerevisiae*: determination of biosorption heats. Journal of hazardous materials. 100(1-3): 219-29.
18. Piechalak A, Tomaszewska B, Baralkiewicz D, Malecka A. 2002, Accumulation and detoxification of lead ions in legumes. Phytochemistry. 60: 153-162.
19. Presta A, Stillman MJ. 1997, Incorporation of copper into the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Identification of Cu (I)-metallothionein in intact yeast cells. Journal of inorganic biochemistry. 66: 231-240.
20. Rae T, Schmidt P, Pufahl R, Culotta V, V O'Halloran T. 1999, Undetectable intracellular free copper: the requirement of a copper

chaperone for superoxide dismutase. Science. 284: 805-808.
21. Ramsay LM, Gadd GM. 1997, Mutants of *Saccharomyces cerevisiae* defective in vacuolar function confirm a role for the vacuole in toxic metal ion detoxification. FEMS microbiology letters. 152(2): 293-8.
22. Riggle PJ, Kumamoto CA. 2000, Role of a Candida albicans P1-type ATPase in resistance to copper and silver ion toxicity. Journal of bacteriology. 182: 4899-4905.
23. Strasser H, Brunner H, Schinner F. 1995, Leaching of iron and toxic heavy metals from anaerobically-digested sewage sludge. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 14(3): 281-7.
24. Strouhal M, Kizek R, Vacek J, Trnková L, Nmec M. 2003, Electrochemical study of heavy metals and metallothionein in yeast *Yarrowia lipolytica*. Bioelectrochemistry. 60(1-2): 29-36.
25. Vadkertiová R, Sláviková E. 2006, Metal tolerance of yeasts isolated from water, soil and plant environments. Journal of basic microbiology. 46(2): 145-52.
26. Vulpe CD Packman S. 1995, Cellular copper transport. Annual review of nutrition. 15: 293-322.
27. Wang J, Chen C. 2006, Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: A review. Biotechnology Advances. 24(5): 427-51.
28. White C, Gadd G. 1986, Uptake and cellular distribution of copper, cobalt and cadmium in strains of *Saccharomyces cerevisiae* cultured on elevated concentrations of these metals. FEMS microbiology letters. 38(5): 277-83.
29. Zhao M, Duncan JR. 1998, Column sorption of Cr (VI) from electroplating effluent using formaldehyde cross-linked *Saccharomyces cerevisiae*. Biotechnology letters. 20(6): 603-6.
30. Zhu J, Xu L. 1998, Simulated experiment of Cu^{2+} treatment using *Saccharomyces cerevisiae*. Chinese Journal of Applied Environmental Biology. 4: 400.

Investigation of copper and lead tolerance and biosorption by three standard yeast strains

Hasani A.R., Etemadifar Z. and Nahvi I.

Biology Dept., Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan, I.R. of Iran

Abstract

Environmental pollution by heavy metals has become one of the most serious environmental issues today. In past years, various physical and chemical methods were evaluated and tested to remove heavy metals, but most of them happen to be tough or hazardous, complex, incomplete, expensive moreover requiring lot of energy. Using microorganisms as adsorbents for removal of heavy metal offers a potential alternative to mentioned methods. In this study, three standard yeast including *Saccharomyces cerevisiae* PTCC 5052, *Kluyveromyces marxianus* DSMZ5422 *Yarrowia lipolytica* DSMZ 8218, was used. Resistance of yeast to different concentrations of copper and lead were measured, The yeast were more resistant towards copper (up to 6mM by *Y. lipolytica*, 5mM by *K. marxianus* and 1mM by *S. cerevisiae*) and less resistant towards lead (up to 2mM by the used yeasts). Then based on the observed resistance of the yeast, their ability in metal absorption was examined. Yeast metal uptake at concentrations that they were sensitive, were more. The maximum uptake by the yeasts were 168mg/ g dry weight (g dry W) copper and 54.6mg/g dry W lead by *S. cerevisiae*, 75.56mg/g dry W from copper and 67.46mg/g dry W from lead by *K. marxianus*, and 696mg/g dry W copper and 69.66mg/g dry W from lead by *Y. lipolytica*. Another test was performed to investigate the effect of glucose on uptake in low concentrations. It was observed that glucose was ineffective on absorption which is energy-independent and effective on bioaccumulation which is energy-dependant.

Key words: Yeast, Heavy metals, Metal resistance, Biosorption, Atomic absorption.