

BIOSORPCJA I USUWANIE Cd, Cu, Pb ORAZ Zn Z ROZTWORÓW
WODNYCH PRZEZ SORBENTY UZYSKANE Z GRZYBA
PLEŚNIOWEGO *RHIZOPUS NIGRICANS* I ODPADOWEJ
BIOMASY DROŻDŻY *SACCHAROMYCES UVARUM*

BARBARA PAWLIK-SKOWROŃSKA, JACEK PIRSZEL,
TADEUSZ SKOWROŃSKI

Stacja Badawcza Instytutu Ekologii PAN, ul. Niecała 18/3, 20-080 Lublin

Keywords: heavy metals, biosorption, removal, fungi, *Rhizopus nigricans*, *Saccharomyces uvarum*.

BIOSORPTION AND REMOVAL OF Cd, Cu, Pb AND Zn FROM
AQUEOUS SOLUTIONS BY MOULD FUNGUS *RHIZOPUS NIGRICANS*
AND WASTE BIOMASS OF YEAST *SACCHAROMYCES UVARUM*

The cation-exchange capacity and biosorption of Cd, Cu, Pb and Zn by sorbents prepared from mould fungus *Rhizopus nigricans* and waste yeast biomass of *Saccharomyces uvarum* were determined and compared. The cation-exchange capacities of fungal biomasses were determined by means of potentiometric titration. Heavy metal sorption was measured using both radiometric method (Cd, Zn) and ASA (Pb, Cu). It was found that the biosorbent of *R. nigricans* possesses ca. 2.5-fold higher cation-exchange capacity (633 $\mu\text{eq/g}$ dry wt.) than the sorbent of *S. uvarum* (247 $\mu\text{eq/g}$ dry wt.), can bind proportionally higher amounts of heavy metals (0.51 mmole Pb/g dry wt.; 0.27 mmole Zn/g dry wt.; 0.23 mmole Cu/g dry wt.; 0.19 mmole Cd/g dry wt.) and has better mechanical properties. The sorption of Cd, Cu, Zn and Pb by both fungal sorbents was pH-dependent. Cd and Zn sorption increased with the pH increase within the range 4–7. Pb sorption was highest within the pH range 5–7 and decreased significantly (by 50%) at pH 4, while Cu sorption was highest within the pH range 6–7. The excess of Ca and Mg in heavy metal mixture did not cause any essential decrease of Cd, Cu and Zn sorption, however, the Pb sorption by *S. uvarum* decreased by 25%. The presence of orthophosphates did not decrease the Cd, Cu and Zn sorption, but chlorides caused a decrease of Cd sorption by 26%. The presence of phosphates in the heavy metal mixture containing chlorides caused higher metal sorption than in solution containing chlorides only. The sorbent of *R. nigricans* used as a bed in column removed efficiently cadmium from aqueous solution of the concentration 1 mM Cd.

Streszczenie

Badano i porównywano pojemność kationowymienną oraz sorpcję Cd, Cu, Pb i Zn przez biosorbenty uzyskane z grzyba pleśniowego *Rhizopus nigricans* oraz odpadowej biomasy drożdży z przemysłu fermentacyjnego *Saccharomyces uvarum*. Pojemność kationowymienną biomas grzybowych wyznaczano metodą miareczkowania potencjometrycznego, natomiast sorpcję metali cięż-

kich badano przy użyciu metody radiometrycznej (Cd i Zn) oraz atomowej spektroskopii absorpcyjnej (Cu i Pb).

Stwierdzono, że sorbent z *R. nigricans* charakteryzuje się ok. 2,5-krotnie większą pojemnością kationowymienną (633 $\mu\text{eq/g s.m.}$) niż sorbent z *S. uvarum* (247 $\mu\text{eq/g s.m.}$), wiąże proporcjonalnie większe ilości badanych metali (0,51 mmola Pb/g s.m.; 0,27 mmole Zn/g s.m.; 0,23 mmola Cu/g s.m.; 0,19 mmola Cd/g s.m.) oraz ma lepsze właściwości mechaniczne. Wielkość sorpcji Cd, Cu, Pb i Zn była zależna od pH roztworu metali. Sorpcja Cd i Zn na obu sorbentach wzrastała wraz ze wzrostem pH w zakresie 4 – 7, sorpcja Pb osiągała podobne maksymalne wartości w zakresie pH 5 – 7, a zmniejszała się o ok. 50% przy pH 4, natomiast sorpcja Cu osiągała najwyższe wartości w zakresie pH 6 – 7. Stwierdzono, że ok. 17-krotny nadmiar kationów Ca^{2+} i Mg^{2+} powodował nieznaczne zmniejszenie sorpcji Cd, Cu i Zn przez oba sorbenty, natomiast obniżał sorpcję Pb przez *S. uvarum* (o 25%). Obecność ortofosforanów nie powodowała zmian w wielkości sorpcji Cd, Cu i Zn, natomiast chlorki wpływały na obniżenie o 26% sorpcji kadmu przez badane sorbenty. Jednoczesna obecność obu tych ligandów nieorganicznych niwelowała do pewnego stopnia hamujący wpływ chlorków. Sorbent z *R. nigricans* zastosowany jako żelże w kolumnie efektywnie usuwał kadm z roztworu o stężeniu 1 mM Cd.

WSTĘP

Badania nad wykorzystaniem mikroorganizmów jako sorbentów toksycznych metali są prowadzone od wielu lat [5, 6, 10, 13]. Żywe zainteresowanie budzą zwłaszcza zdolności biomas grzybów i glonów do akumulowania metali ciężkich i radionuklidów z otaczającego środowiska [11, 15, 16, 18]. W związku z istnieniem znaczących różnic w pojemności sorpcyjnej pomiędzy różnymi grupami systematycznymi, a nawet poszczególnymi gatunkami mikroorganizmów [3, 8, 9], istotne jest wybranie organizmu o optymalnych właściwościach sorpcyjnych, dającego się łatwo hodować lub którego biomasa byłaby łatwo dostępna i tania. Warunki takie spełniają np. odpadowe biomasy z przemysłu fermentacyjnego, takie jak drożdże (*Saccharomyces uvarum*) lub biomasa grzyba pleśniowego *Rhizopus nigricans*. Martwe biomasy grzybów jako biosorbenty metali ciężkich wydają się atrakcyjniejsze niż biomasy żywe, ponieważ przy ich zastosowaniu nie odgrywają żadnej roli efekty toksyczne metali wywierane na organizmy żywe, wymagania pokarmowe ani też konieczność utrzymywania sterylnych warunków. Stwierdzono również, że martwe biomasy mikroorganizmów mogą wiązać większe ilości metali ciężkich niż biomasy żywe [8, 17]. Celem prezentowanej pracy było określenie zdolności sorpcyjnych preparatów uzyskanych z biomasy pleśni *Rhizopus nigricans* oraz odpadowej biomasy drożdży *Saccharomyces uvarum* do wiązania kadmu, miedzi, cynku i ołowiu oraz usuwania ich z roztworów wodnych.

MATERIAŁY I METODY

ORGANIZMY, HODOWLA I PRZYGOTOWANIE BIOMAS

Szczep *Rhizopus nigricans* 3/2, pochodzący z kolekcji kultur Katedry Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowalnictwa Akademii Rolniczej w Lublinie, hodowano na płynnej pożywce z wyciągiem ziemniaczanym

w temperaturze 21°C na wytrząsarce. Uzyskaną w ten sposób grzybnię *R. nigricans* przemywano wodą w celu usunięcia podłoża, suszono w temperaturze 60°C, ucierano i frakcjonowano na sicie 0,3 mm.

Świeżą odpadową biomasę *Saccharomyces uvarum* otrzymano z Lubelskich Zakładów Piwowarskich w Lublinie. Po przemyciu wodą suszono ją w temperaturze 60°C, rozdrobniono w móżdziejku i przesiano przez sito 0,3 mm.

MIARECZKOWANIE POTENCJOMETRYCZNE BIOMAS

Biomasy grzybów przemywano 10 mM NaNO₃ i zawieszano w świeżym roztworze NaNO₃. Objętość miareczkowanych zawiesin wynosiła 13 cm³, a gęstość 7,7 g s.m./dm³ w przypadku *S. uvarum* oraz 5,8 g s.m./dm³ dla *R. nigricans*. Przed rozpoczęciem miareczkowania usuwano z zawiesin dwutlenek węgla za pomocą argonu i ustalano odczyn zawiesin na pH 10, przy użyciu 0,1 M NaOH. Następnie zawiesiny te miareczkowano za pomocą 0,1 lub 0,05 M HCl w zakresie pH 10–2,5. Roztwór HCl był podawany ze stałą prędkością (41 μl/min) przez pompę perystaltyczną, a zmiany pH były rejestrowane przy użyciu pH-metru (Orion 370) z elektrodą kombinowaną (Orion, 82-72). Przeprowadzono również miareczkowania roztworów NaOH przy użyciu 0,1 i 0,05 M HCl. Dla każdej biomasy przeprowadzono miareczkowanie w trzech powtórzeniach. Eksperymenty prowadzono w temp. 25 ± 1°C w atmosferze argonu.

BADANIE SORPCJI METALI PRZEZ BIOMASY GRZYBÓW

Sorpcję Cd, Zn, Cu i Pb badano używając zawiesin (1 g s.m./dm³) sorbentów uzyskanych z biomas *R. nigricans* i *S. uvarum* w 2 mM buforze PIPES/NaOH o pH 6 (o ile nie zaznaczono inaczej). Eksperymenty prowadzono w polietylenowych naczyniach w temperaturze 21 ± 1°C, używając roztworów następujących soli: Cd(NO₃)₂, Zn(NO₃)₂, Pb(NO₃)₂ i CuSO₄. Doświadczenia prowadzono w zakresie stężeń metali 0,001–1 mM. Inkubację sorbentów z poszczególnymi metalami lub ich mieszaniną prowadzono przez 3 godziny.

Do wyznaczenia maksymalnej pojemności sorpcyjnej (a_{\max}) badanych sorbentów zastosowano model izotermy Langmuira:

$$a = a_{\max} \cdot b \cdot c_r / (1 + b \cdot c_r),$$

gdzie: a jest sorpcją metalu (mg/g s.m.), b jest stałą Langmuira, a c_r jest stężeniem równowagowym metalu w roztworze (mg/dm³).

Stężenia metali w roztworach określano metodą radiometryczną lub przy użyciu absorpcyjnej spektrometrii atomowej (FAAS lub GFAAS). Sorpcja Cd i Zn była badana przy użyciu Cd(NO₃)₂ i Zn(NO₃)₂ znaczonych ¹⁰⁹Cd (Du Pont, 5,7 kBq/ml) i ⁶⁵Zn (Polatom, 12 kBq/ml). Aktywność próbek mierzono w automatycznym liczniku scyntylicyjnym z kryształem węgłowym (Beckman

Gamma 5500, USA). Stężenia Cu i Pb były mierzone techniką absorpcyjnej spektroskopii atomowej (AAS3, Carl-Zeiss Jena).

Zależność sorpcji metali od pH badano stosując 3-godzinną inkubację sorbentów w roztworze metalu o stężeniu 0,1 mM (Cu, Pb) lub 0,01 mM (Cd, Zn) w zakresie pH od 4 do 7.

Badano także równoczesny wpływ wapnia ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) i magnezu ($\text{Mg}(\text{SO}_4)_2$) (w stężeniach 0,5 mM) oraz chlorków (0,1 M KCl) i ortofosforanów (0,1 mM K_2HPO_4) na sorpcję metali ciężkich z ich mieszaniny (stężenie poszczególnych metali 0,03 mM). Wszystkie eksperymenty powtórzono trzykrotnie, a wyniki przedstawiono jako średnie.

USUWANIE KADMU NA KOLUMNIE WYPEŁNIONEJ BIOSORBENTEM *R. NIGRICANS*

Szklaną kolumnę o średnicy 9 mm napełniono 1,8 g sorbentu uzyskanego z *R. nigricans*. Przepuszczano przez nią 1 mM roztwór $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ z prędkością 1 cm^3/min . Zbierano frakcje o objętości 10 cm^3 i oznaczano w nich stężenie kadmu metodą ASA.

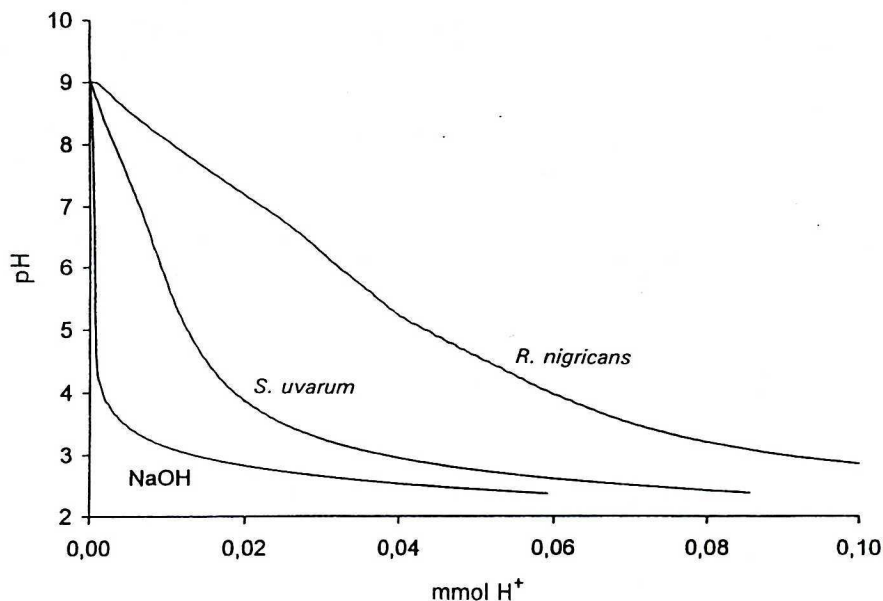
WYNIKI

W celu oszacowania i porównania pojemności kationowymiennej sorbentów uzyskanych z biomas grzybowych mierzono metodą miareczkowania potencjometrycznego ilość protonów związanych z ich powierzchnią.

Rys. 1 przedstawia krzywe miareczkowania potencjometrycznego wysuszonych biomas *R. nigricans* i *S. uvarum*. Ich nachylenie jest mniejsze niż krzywej miareczkowania NaOH, co świadczy o reakcji protonów z grupami funkcyjnymi biomas, które są zdolne także do wiązania innych kationów, np. metali ciężkich. Ponieważ miareczkowania były prowadzone w środowisku NaNO_3 , więc była to głównie wymiana Na^+/H^+ . Wyraźnie mniejsze nachylenie krzywej miareczkowania *R. nigricans* wskazuje na znacznie większą wymianę Na^+/H^+ dla tego sorbenta. W tabeli 1 przedstawiono zdolność biomas grzybowych do wiązania protonów w wąskich zakresach pH otaczającego roztworu. Ilość związanych protonów odpowiada ilości grup funkcyjnych, które mogą być zaangażowane w wiązanie kationów metali ciężkich i których stałe dysocjacji pK_a są liczbowo równe wartości pH, przy którym zachodzi wiązanie protonów. Zarówno krzywe miareczkowań (brak wyraźnych punktów przegięcia) przedstawione na rysunku 1, jak i wartości w tabeli 1 wskazują, że obie biomas zawierają grupy funkcyjne o szerokim zakresie pK_a . Zdolność do wymiany Na^+/H^+ charakterystyczna dla biomas *R. nigricans* (633 $\mu\text{eq/g s.m.}$) jest 2,5-krotnie wyższa niż w przypadku biomas *S. uvarum* (247 $\mu\text{eq/g s.m.}$), co wskazuje na znacznie większą pojemność kationowymiennej *R. nigricans*.

Tabela 1. Zdolność biomas grzybów do wiązania jonów wodorowych w poszczególnych zakresach pH ($\mu\text{eq/g s.m.}$)Proton binding abilities of fungal biomasses within different pH ranges ($\mu\text{eq/g dry wt.}$)

Zakres pH pH range	Wiązanie jonów wodorowych ($\mu\text{eq/g s.m.}$) Proton binding ($\mu\text{eq/g dry wt.}$)	
	<i>Rhizopus nigricans</i>	<i>Saccharomyces uvarum</i>
8,0–7,5	54±2	16±0
7,5–7,0	56±7	15±1
7,0–6,5	51±9	14±0
6,5–6,0	43±12	14±1
6,0–5,5	48±2	14±1
5,5–5,0	54±3	16±1
5,0–4,5	77±3	22±1
4,5–4,0	78±10	31±2
4,0–3,5	77±20	43±1
3,5–3,0	95±38	62±4
8,0–3,0	633±96	247±9

Rys. 1. Krzywe miareczkowania potencjometrycznego biomas grzybów (*R. nigricans* – 75 mg, *S. uvarum* – 100 mg)Potentiometric titration curves of fungal biomasses (*R. nigricans* – 75 mg, *S. uvarum* – 100 mg)

Kinetyki sorpcji Cd, Zn, Cu i Pb na biomasach *R. nigricans* i *S. uvarum* z roztworów poszczególnych metali o stężeniu $10 \mu\text{M}$ przedstawia rysunek 2. Około 90% sorbowanego metalu jest wiązane przez biomasę w ciągu pierwszych 15 min. kontaktu z roztworem. Równowaga sorpcyjna ustala się po

ok. 2–3 godzinach. W przypadku *R. nigricans* (Rys. 2A) po 4 godzinach ok. 70% wprowadzonego Cu i Zn, 85% Cd oraz 99% Pb zostaje związane przez tę biomasę. Biomasa *S. uvarum* wiązała mniej metali: od 35 do 47% (Rys. 2B).

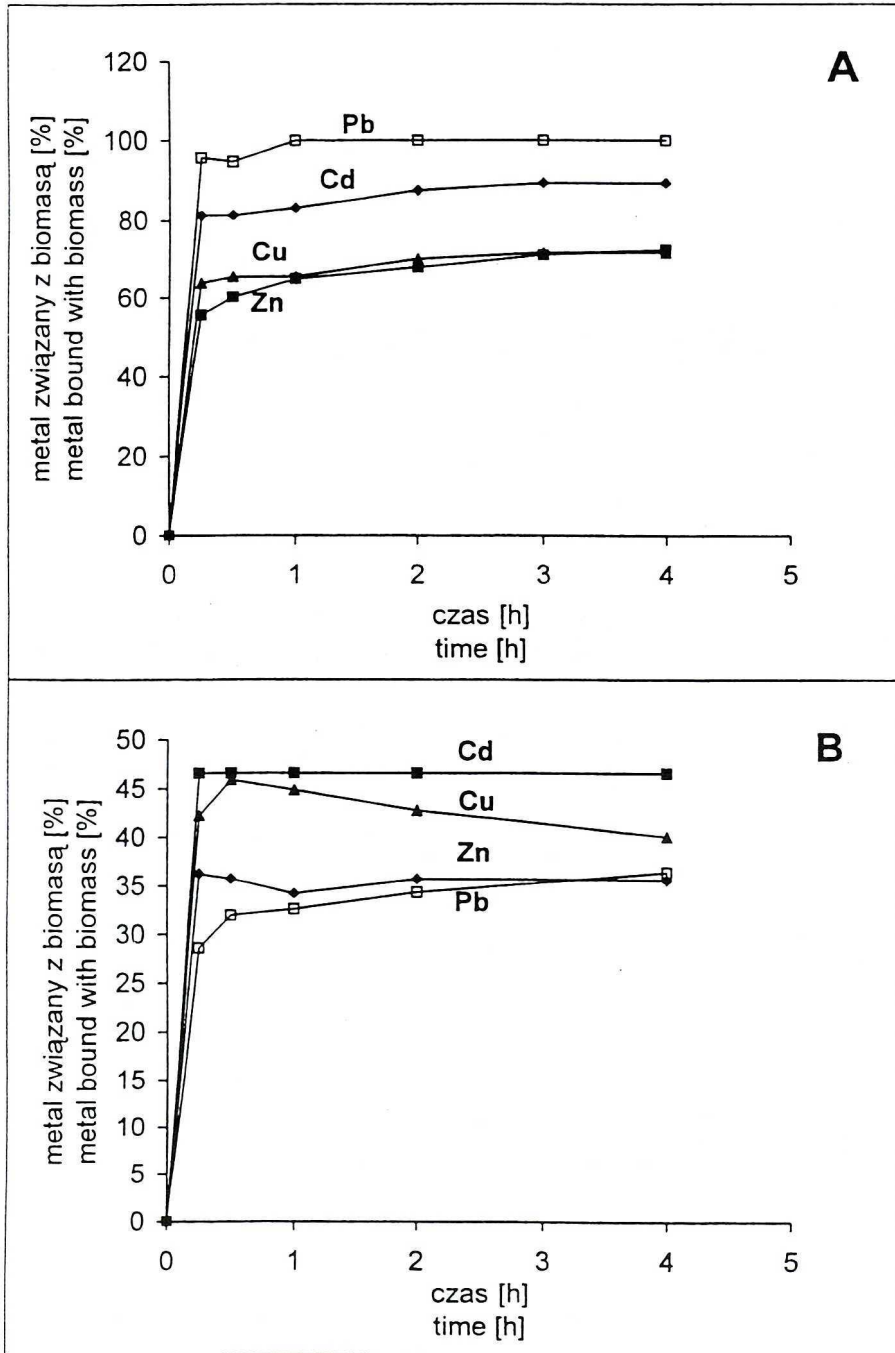
Izotermy sorpcji Cd, Zn, Cu i Pb odzwierciedlające zależność między wielkością sorpcji danego metalu na biomasach *R. nigricans* i *S. uvarum* a stężeniem równowagowym metalu w otaczającym roztworze przedstawiono na rysunku 3. Stosując dla izoterm równanie Langmuira wyznaczono wartości maksymalnej pojemności sorpcyjnej (a_{\max}) dla poszczególnych badanych metali ciężkich (Tab. 2) i stwierdzono, że wartości te (wyrażone w stężeniach molowych) układały się rosnąco w następujących szeregach: w przypadku sorbentu z *R. nigricans* – Cd < Cu < Zn < Pb, natomiast *S. uvarum* – Cd < Zn < Cu < Pb.

Tabela 2. Maksymalne pojemności sorpcyjne biomas grzybów a_{\max} (mmol/g s.m.) przy pH 6
Maximum sorption capacity of fungal biomasses a_{\max} (mmole/g dry wt.) at pH 6

Metal	a_{\max}			
	<i>Rhizopus nigricans</i>		<i>Saccharomyces uvarum</i>	
	mg/g s.m. mg/g dry wt.	mmol/g s.m. mmole/g dry wt.	mg/g s.m. mg/g dry wt.	mmol/g s.m. mmole/g dry wt.
Cd	21,2	0,19	7,3	0,06
Zn	17,5	0,27	5,0	0,08
Cu	14,8	0,23	9,5	0,15
Pb	105	0,51	39	0,19

Ilość metali ciężkich związanych przez badane biomasy grzybowe była zależna od pH roztworu (Rys. 4). Obserwowano silny spadek sorpcji Cd i Zn wraz z obniżaniem pH w zakresie 7–4, zwłaszcza w przypadku *S. uvarum*, gdzie zmniejsza się ona drastycznie przy pH 5 i niższym. W zakresie pH 5–7 sorpcja Cu i Pb wykazuje mniejszą zależność od pH niż sorpcja Cd i Zn; dotyczy to obu badanych biomas. Sorpcja Pb osiągała wysokie, zbliżone wartości w zakresie pH 5–7, natomiast Cu osiągała najwyższe wartości w zakresie pH 6–7. W obecności jonów wapnia i magnezu, wprowadzonych w stężeniu 0,5 mM do mieszaniny czterech metali ciężkich (0,03 mM każdy), zmniejszenie sorpcji Cd, Zn i Cu przez biomasy *R. nigricans* i *S. uvarum* było przeważnie znikome i wynosiło 0–8% w stosunku do roztworów nie zawierających Ca i Mg (Rys. 5). W warunkach eksperymentu tylko sorpcja Pb przez biomasę *S. uvarum* wyraźnie się zmniejszyła (o 27%) w obecności Ca i Mg. Obecność anionów chlorkowych i ortofosforanowych w mieszaninie czterech badanych metali ciężkich nie wywierała istotnego wpływu na sorpcję cynku i miedzi przez badane sorbenty (Rys. 6). Jednakże sorpcja kadmu przez obie biomasy zmniejszała się w obecności 0,1 M Cl⁻ o ok. 26% w porównaniu z sorpcją Cd z roztworu nie zawierającego chlorków.

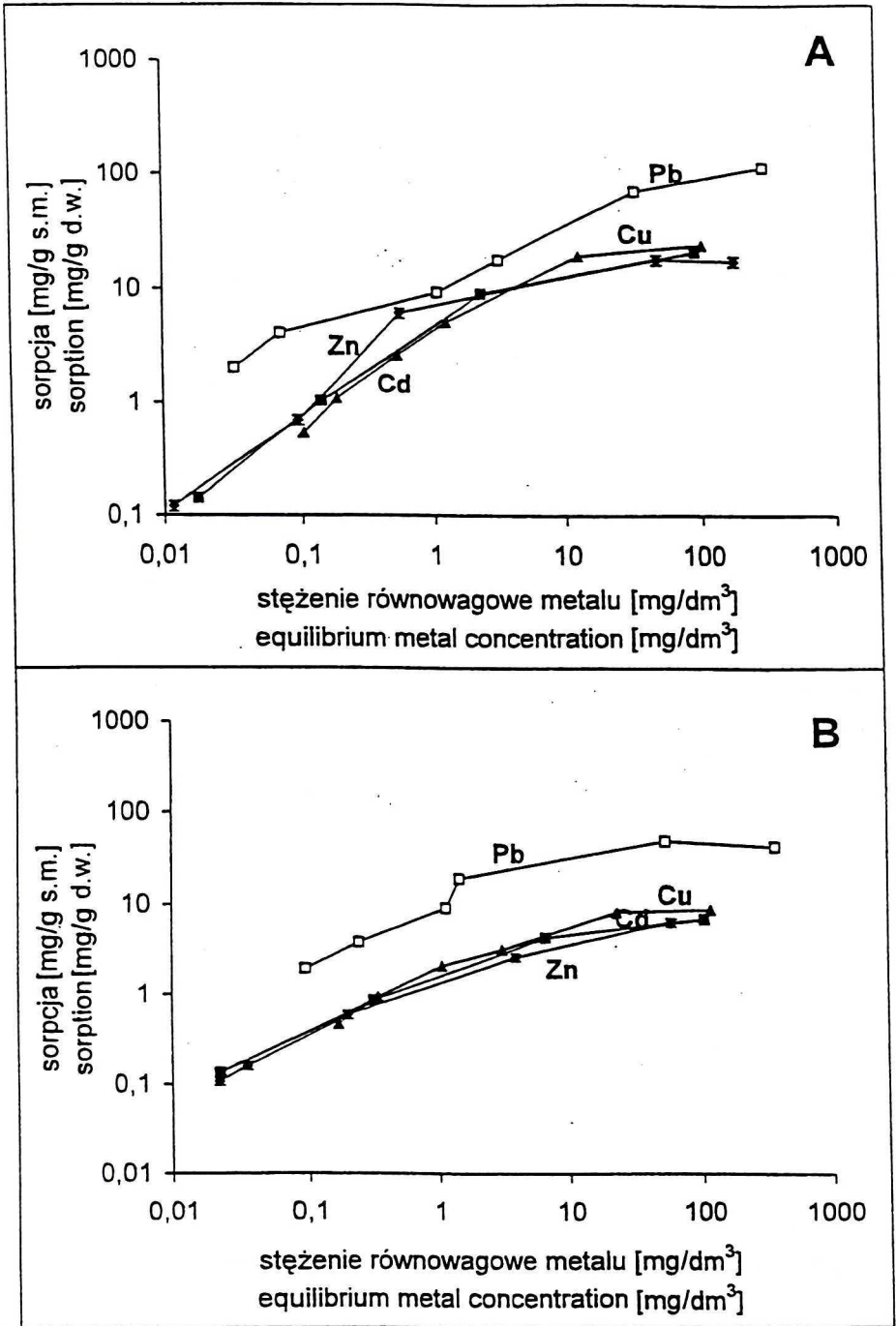
Kolumna wypełniona sorbentem uzyskanym z *R. nigricans* skutecznie usuwała kadm z roztworu o stężeniu początkowym 1 mM Cd (Rys. 7). Przebiecie kolumny nastąpiło dopiero po przepłynięciu 120 cm³ roztworu metalu.



Rys. 2. Kinetyki sorpcji metali ciężkich przez suszone biomasy *R. nigricans* (A) i *S. uvarum* (B).

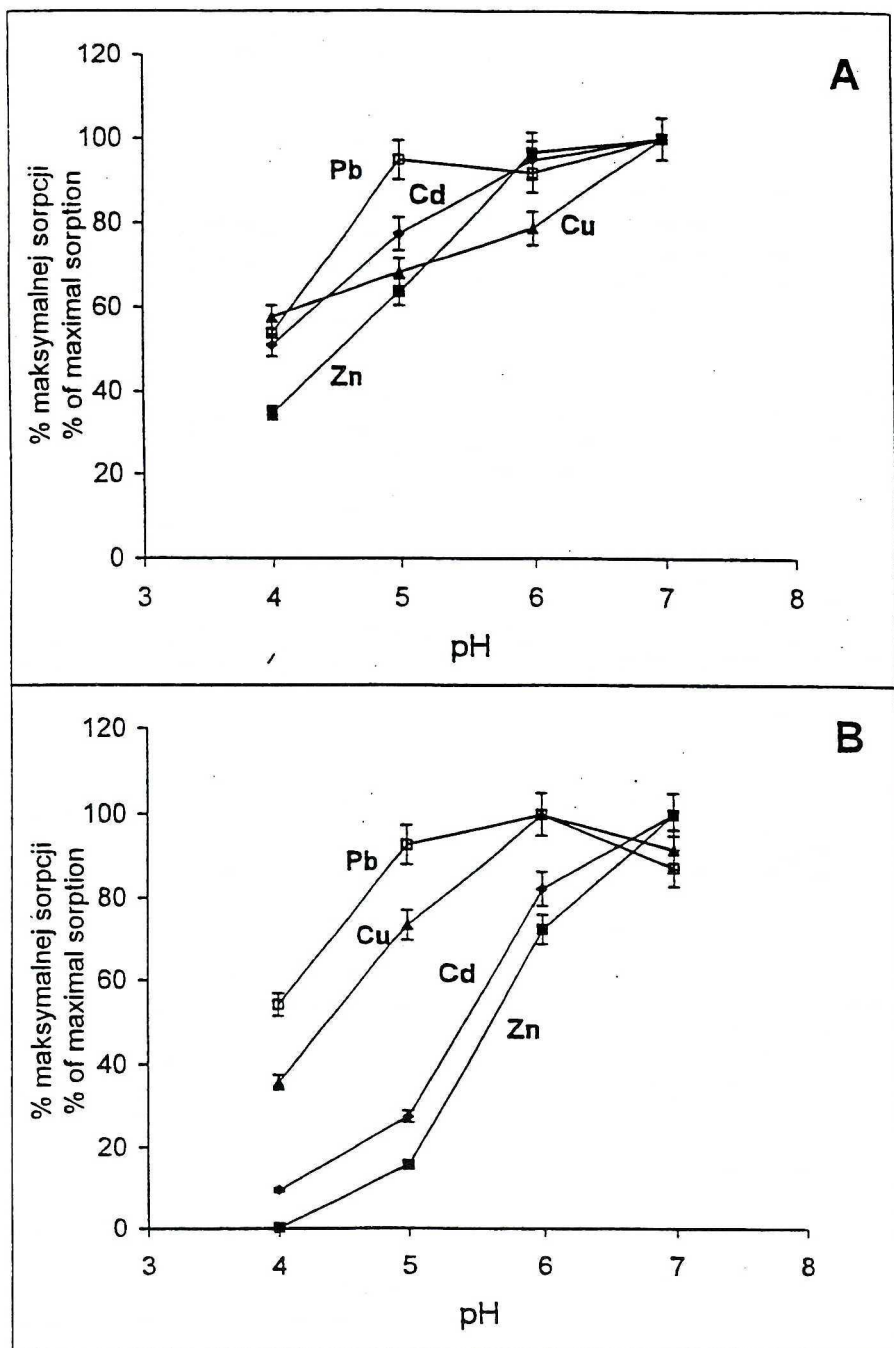
Początkowe stężenia metali (100%) wynosiły: Cd, Cu, Zn – 0,01 mM; Pb – 0,03 mM

Kinetics of heavy metal sorption by dried biomasses of *R. nigricans* (A) and *S. uvarum* (B). Initial metal concentrations (100%) were: Cd, Cu, Zn – 0.01 mM; Pb – 0.03 mM

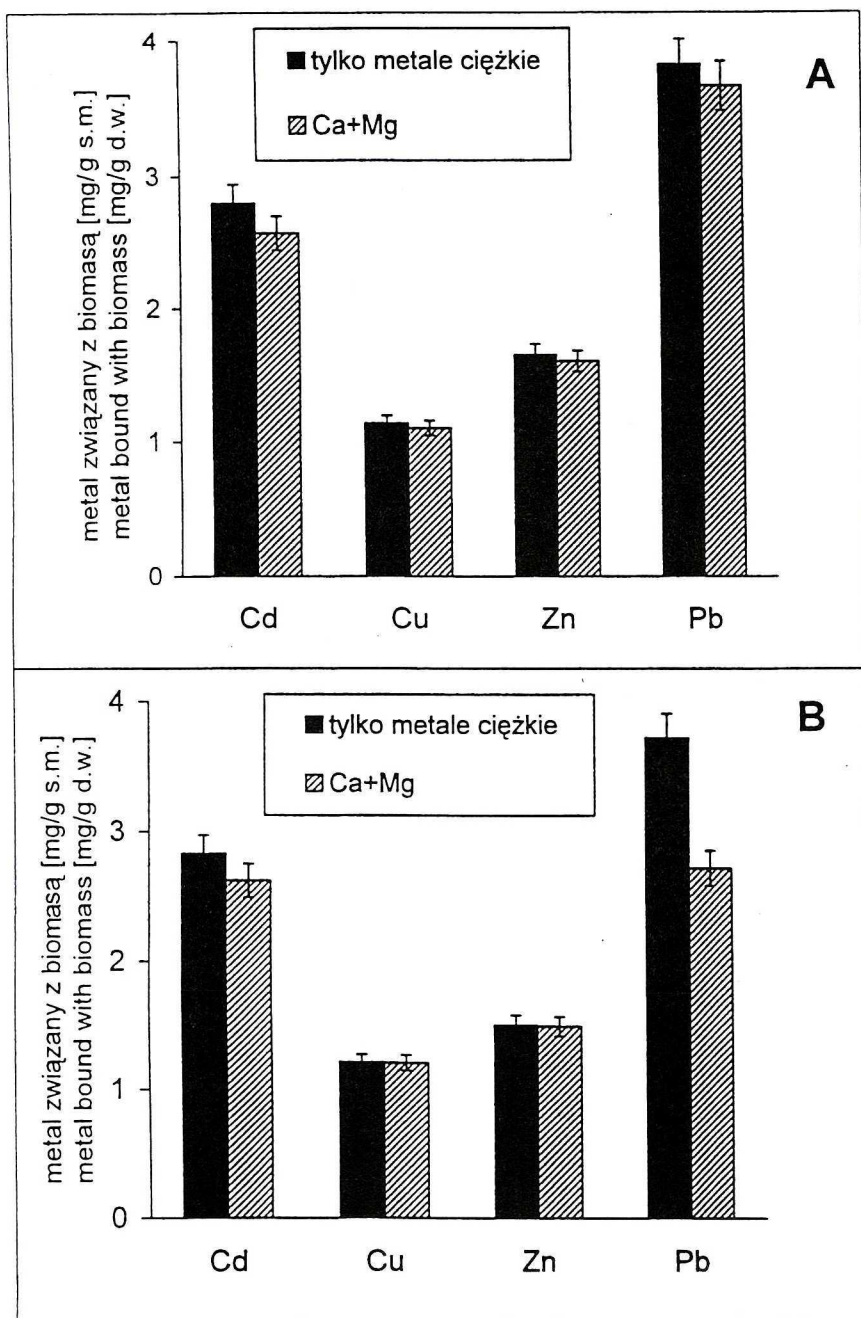


Rys. 3. Izotermi sorpcji metali ciężkich przez suszone biomasy *R. nigricans* (A) i *S. uvarum* (B), pH 6

Isotherms of heavy metal sorption by dried biomasses of *R. nigricans* (A) and *S. uvarum* (B) at pH 6

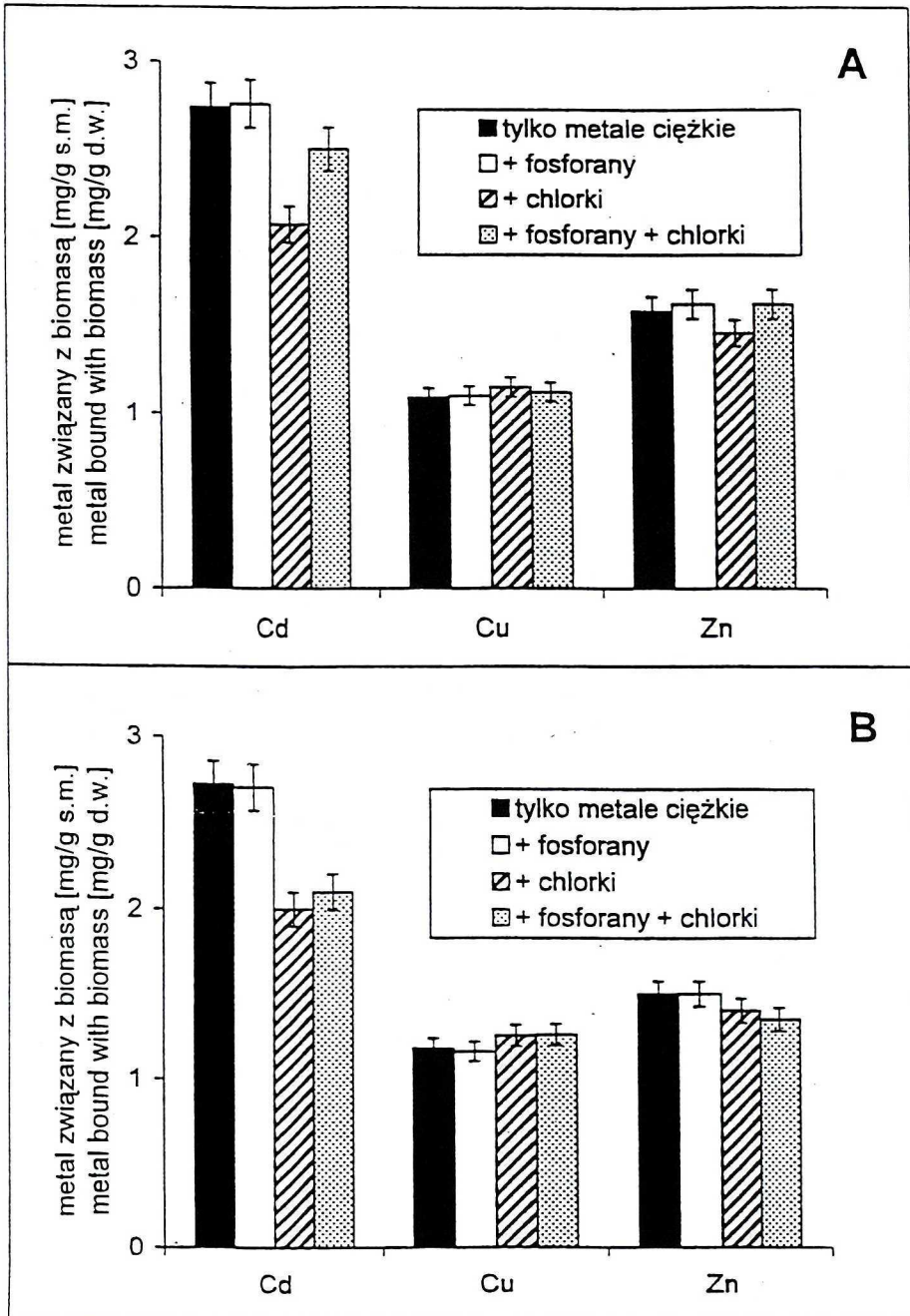


Rys. 4. Zależność sorpcji metali ciężkich przez suszone biomasy *R. nigricans* (A) i *S. uvarum* (B) od pH. Początkowe stężenia metali wynosiły 0,1 mM (Cu, Pb) i 0,01 mM (Cd, Zn)
 pH—dependence of heavy metal sorption by dried biomasses of *R. nigricans* (A) and *S. uvarum* (B).
 Initial metal concentrations were 0.1 mM (Cu, Pb) and 0.01 mM (Cd, Zn)



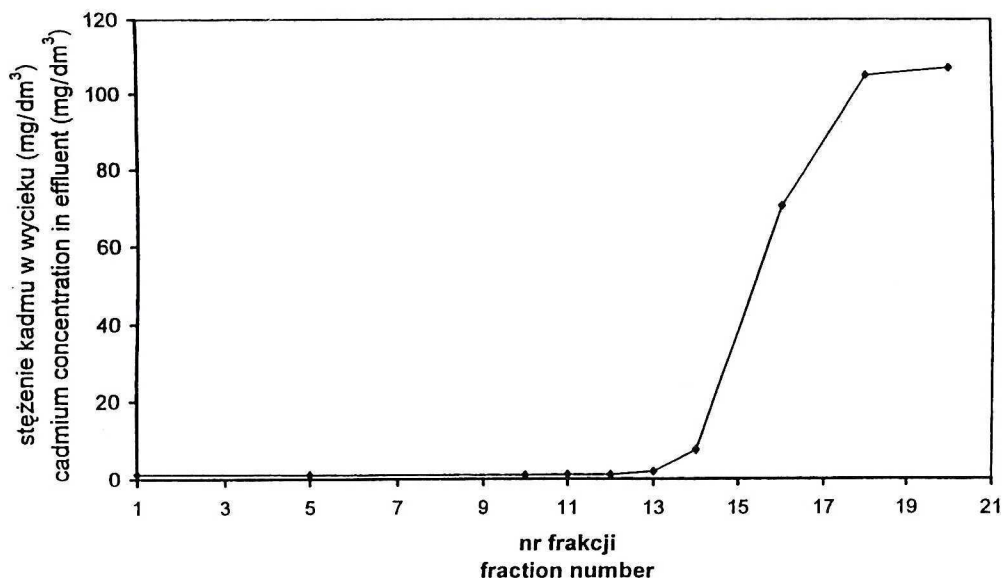
Rys. 5. Wpływ równoczesnego dodatku Ca (0,5 mM) i Mg (0,5 mM) na sorpcję metali ciężkich przez suszone biomasy *R. nigricans* (A) i *S. uvarum* (B). Początkowe stężenia metali w ich mieszaninie wynosiły 0,03 mM

The effect of simultaneous excess of Ca (0.5 mM) and Mg (0.5 mM) on heavy metal sorption by dried biomasses of *R. nigricans* (A) and *S. uvarum* (B). Initial concentration of each metal in their mixture was 0.03 mM



Rys. 6. Wpływ jonów chlorkowych (0,1 M) i ortofosforanowych (0,1 mM) na sorpcję metali ciężkich przez suszone biomasy *R. nigricans* (A) i *S. uvarum* (B). Początkowe stężenia metali w ich mieszaninie wynosiły 0,03 mM

The effect of chloride (0.1 M) and orthophosphate (0.1 mM) ions on heavy metal sorption by dried biomasses of *R. nigricans* (A) and *S. uvarum* (B). Initial concentration of each metal in their mixture was 0.03 mM



Rys. 7. Usuwanie kadmu z roztworu (112 mg Cd/dm^3) przez kolumnę wypełnioną suszoną biomasą *R. nigricans* (1,8 g)

Cadmium removal from solution (112 mg Cd/dm^3) on column filled with dried biomass of *R. nigricans* (1.8 g)

DYSKUSJA

Sorpcja metali ciężkich przez sorbenty uzyskane z martwych biomas mikroorganizmów oparta jest głównie na procesie wymiany jonowej, jakkolwiek wiązanie kowalencyjne może również odgrywać pewną rolę [2]. Kationy metali wiążą się z grupami funkcyjnymi (karboksylowymi, fosforanowymi, hydroksylowymi, aminowymi) obecnymi w polisacharydach strukturalnych, białkach i kwasach nukleinowych komórek mikroorganizmów poprzez wymianę z protonami lub innymi, już związanymi kationami metali [8, 12, 15, 18]. Różnorodność tych grup oraz heterogeniczność ich rozmieszczenia sugerowały, że metoda miareczkowania potencjometrycznego może być zastosowana do oceny zdolności martwych komórek mikroorganizmów do wiązania metali ciężkich [3, 8, 9]. Miareczkowanie potencjometryczne daje informację o ilości i jakości grup funkcyjnych zdolnych do wiązania kationów metali oraz o rozkładzie stałych dysocjacji pK_a tych grup. Metoda ta może być więc użyta do porównania i wyboru biosorbentów w celu użycia ich do usuwania cennych lub toksycznych metali ze ścieków. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że pojemność kationowymienna sorbentu uzyskanego z biomasy *R. nigricans* jest 2,5-krotnie większa niż sorbentu z *S. wvarum*. W sorbencie z *R. nigricans* widoczny jest znacznie większy udział grup funkcyjnych o wysokich pK_a (typowych dla grup aminowych), a także dla grup o $pK_a < 5$ (np. grup

karboksylowych). Wiąże się to głównie z różnicami jakościowo-ilościowymi ścian komórkowych badanych grzybów. Pleśnie z rodzaju *Rhizopus* zawierają oprócz takich biopolimerów, jak glukany czy mannany (stanowiących również ok. 60% masy ściany komórkowej drożdży [19]) także znaczne ilości chityny i chitosanu, zdolnych do wiązania metali, występujących u drożdży w ścianie komórkowej tylko w ok. 1% [18]. Sorpcja wszystkich badanych metali ciężkich była wyraźnie większa na sorbencie z *R. nigricans* niż na *S. uvarum*. Obie badane biomasy wiązały najwięcej ołowiu; *R. nigricans* 0,51 mmol/g s.m., natomiast *S. uvarum* 0,19 mmol/g s.m. Duża wartość a_{\max} Pb w stosunku do innych pierwiastków może być spowodowana tworzeniem kompleksów Pb z kwasami organicznymi, które mają największe stałe trwałości spośród badanych pierwiastków. Ilość miedzi związana przez sorbent z *S. uvarum* była porównywalna z jej wiązaniem przez preparat wyizolowanych ścian innego gatunku drożdży *S. cerevisiae* [1], lecz mniejsza niż związana przez sorbent *R. nigricans*. Natomiast sorpcja Cd, Zn i Hg przez żywe mycelium glebowego grzyba *Trichoderma harzianum* była 10–30-krotnie niższa [7] niż sorpcja Cd, Zn, Cu i Pb przez biosorbenty uzyskane z *R. nigricans* i *S. uvarum*. Wielkość maksymalnej sorpcji (wyrażona molowo) przez oba badane sorbenty była najwyższa dla Pb, najniższa dla Cd i pośrednia dla Zn i Cu. Wyznaczanie kinetyk i izoterm sorpcji wszystkich czterech metali ciężkich przeprowadzono przy pH 6, aby zminimalizować tworzenie się hydroksykompleksów metali. Badania wpływu pH wykazały, że sorpcja Cd, Cu, Zn i Pb istotnie wzrasta wraz ze wzrostem pH w zakresie 4–6. Przy pH 7 obserwowano dalszy wzrost sorpcji Cd i Zn, natomiast nieznaczny spadek sorpcji Pb i Cu (głównie w przypadku *S. uvarum*). Obserwowane obniżenie sorpcji Pb i Cu przy pH 7 może być spowodowane zmianą formy chemicznej metali (choćby przez tworzenie się hydroksykompleksów) i słabszym wiązaniem tych form. Analogiczna obserwacja dotycząca sorpcji Pb i Zn przez odpadową biomasę *R. arrhizus* została opisana przez Fourest i Roux [4]. Z kolei bardzo słaba sorpcja wszystkich badanych metali ciężkich przy pH 4 świadczyć może o tym, że znaczna liczba grup funkcyjnych biosorbentów grzybowych jest przy tym niskim pH niezdysoncjowana. Podobny efekt został opisany w przypadku adsorpcji Cd przez biomasę glonu *Stichococcus bacillaris* [12]. Nieznaczne obniżenie sorpcji Cd, Cu i Zn w obecności nadmiaru jonów wapnia i magnezu świadczyć może o znacznie silniejszym wiązaniu jonów metali ciężkich przez sorbenty grzybowe. Brady i Tobin [2] badając odpadową biomasę *R. arrhizus* stwierdzili, że sorpcja Cd, Cu i Sr wiąże się z jednoczesnym wypieraniem jonów wapnia i magnezu i że magnez jest wypierany łatwiej niż wapń. Jednakże w przypadku biomasy *S. uvarum* mieszanina Ca i Mg powodowała obniżenie sorpcji Pb o 25%. Z kolei obecność nieorganicznych ligandów (chlorków), które mogą zmieniać formę chemiczną metali ciężkich w roztworze, powodowała obniżenie sorpcji kadmu, pozostając bez wpływu na sorpcję Cu i Zn. Uzyskane wyniki świadczą o tym, że powstające kompleksy kadmowo-chlorkowe są słabiej wiązane przez badane sorbenty niż kationy Cd^{2+} . Podobne efekty obserwowano w przypadku zarówno powierzchniowej sorpcji,

jak i wewnątrzkomórkowego pobierania Cd przez żywą biomasę sinicy *Synechocystis aquatilis* [14] oraz martwych biosorbentów glonowych [8]. Obecność ortofosforanów nie zmniejszała sorpcji Cd, Cu i Zn przez sorbenty z *R. nigricans* i *S. uvarum*. W zastosowanych warunkach eksperymentalnych (pH 6) dominowały jony H_2PO_4^- oraz HPO_4^{2-} , które łatwiej tworzą rozpuszczalne sole z metalami ciężkimi niż obojętne fosforany.

Sorbent uzyskany z biomasy *R. nigricans* wykazywał korzystniejsze właściwości mechaniczne niż sorbent z *S. uvarum*. Dlatego można go było zastosować jako złożo w kolumnie, za której pomocą usunięto kadm z roztworu o stężeniu 1 mM. Uzyskane wyniki wskazują, że biomasy grzybów pleśniowych wydają się być szczególnie obiecującym materiałem, przydatnym w technologii oczyszczania ścieków z toksycznych metali ciężkich.

WNIOSKI

1. Maksymalne pojemności sorpcyjne (a_{max}), wyznaczone na podstawie izoterm sorpcji Cd, Cu, Zn i Pb, sorbentu uzyskanego z grzyba pleśniowego *R. nigricans* są wyższe niż sorbentu z odpadowej biomasy drożdży *S. uvarum*. Jest to zgodne z większą pojemnością kationowymienną biomasy *R. nigricans* niż *S. uvarum*, wyznaczoną metodą miareczkowania potencjometrycznego.

2. Oprócz 2,5-krotnie większej pojemności sorpcyjnej i większej sorpcji Cd, Cu, Pb i Zn przy obniżeniu pH do 5, sorbent z *R. nigricans* ma również lepsze właściwości mechaniczne. Nie ulega rozpadowi w wodzie, łatwiej sedymentuje, co umożliwia zastosowanie go jako złożo w kolumnie.

3. Sorpcja Cd, Cu, Pb i Zn przez oba sorbenty zachodziła najbardziej efektywnie w przedziale pH 6–7. W przypadku zastosowania sorbentu z *S. uvarum* do oczyszczania ścieków silniejsza zależność sorpcji badanych metali od pH stanowiłaby ograniczenie, wymagające rygorystycznej kontroli pH.

4. Obecność jonów wapnia i magnezu oraz ligandów nieorganicznych (ortofosforanów i chlorków), stanowiących istotne składniki wód i ścieków, w nieznacznym stopniu wpływała na wielkość sorpcji Cd, Cu i Zn przez badane sorbenty grzybowe.

Praca została wykonana w ramach projektu finansowanego z grantu Komitetu Badań Naukowych 6PO4G10410

LITERATURA

- [1] Brady D., A.D. Stoll, L. Starke, J.R. Duncan: *Chemical and enzymatic extraction of heavy metal binding polymers from isolated cell walls of Saccharomyces cerevisiae*, Biotechnol. Bioeng., **44**, 297–302 (1994).
- [2] Brady J.M., J.M. Tobin: *Adsorption of metal ions by Rhizopus arrhizus biomass: characterization studies*, Enzyme Microb. Technol., **16**, 671–675 (1994).

- [3] Deneux-Mustin S., J. Rouiller, S. Durecu, C. Munier-Lamy, J. Berthelin: Value of potentiometric titration to determine the metal binding ability of microbial biomass from soil, water and sediments, *Surface Geosciences*, **319**, 1057–1062 (1994).
- [4] Fourest E., J.-C. Roux: *Heavy metal biosorption by fungal mycelial by-products: mechanisms and influence of pH*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **37**, 399–403 (1992).
- [5] Gadd G.M.: *Biosorption*, *Chemistry and Industry*, **7**, 421–426 (1990).
- [6] Galun M., E. Galun, B.Z. Siegel, P. Keller, H. Lehr, S.M. Siegel: *Removal of metal ions from aqueous solutions by Penicillium biomass: kinetic and uptake parameters*, *Water Air Soil Pollut.*, **33**, 359–371 (1987).
- [7] Krantz-Rülcker C., B. Allard, J. Schnürer: *Interactions between a soil fungus Trichoderma harzianum and Pb metals adsorption to mycelium and production of complexing metabolites*, *BioMetals*, **6**, 223–230 (1993).
- [8] Pawlik-Skowrońska B., J. Pirszel, T. Skowroński: *The sorption and removal of heavy metals by algal biomasses*, *Oceanol. Stud.*, **1**, 91–93 (1998).
- [9] Pirszel J., B. Pawlik, T. Skowroński: *Cation-exchange capacity of algae and cyanobacteria: a parameter of their metal sorption abilities*, *J. Ind. Microbiol.*, **14**, 319–322 (1995).
- [10] Shumate S.E., G.W. Strandberg: *Biological removal of metal ions from aqueous process streams*, *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, **8**, 13–20 (1978).
- [11] Siegel S.M., M. Galun, B.Z. Siegel: *Filamentous fungi as metal biosorbent. A review*, *Water, Air, Soil Pollut.*, **53**, 335–344 (1990).
- [12] Skowroński T.: *Adsorption of cadmium on green alga Stichococcus bacillaris*, *Chemosphere*, **15**, 69–76 (1984).
- [13] Skowroński T., M. Przytocka-Jusiak: *Cadmium removal by green alga Stichococcus bacillaris*, *Chemosphere*, **15**, 77–79 (1986).
- [14] Skowroński T., S. Szubińska, M. Jakubowski, B. Pawlik: *Cadmium availability to the cyanobacterium Synechocystis aquatilis in solutions containing chloride*, *Environ. Pollut.*, **76**, 163–167 (1992).
- [15] Tobin J.M., D.G. Copper, R.J. Neufeld: *Investigation of metal uptake by denatured Rhizopus arrhizus biomass*, *Enzyme Microb. Technol.*, **12**, 591–595 (1990).
- [16] Tobin J.M., D.G. Cooper, R.J. Neufeld: *Uptake of metal ions by Rhizopus arrhizus biomass*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **47**, 824–827 (1984).
- [17] Volesky B., H. May, Z.R. Holan: *Cadmium biosorption by Saccharomyces cerevisiae*, *Biotechnol. Bioeng.*, **41**, 826–829 (1993).
- [18] Volesky B., Z.R. Holan: *Biosorption of heavy metals. Review*, *Biotechnol. Prog.*, **11**, 235–250 (1995).
- [19] Wolska-Mitaszko B.: *Metabolizm polimerów ściany komórkowej drożdży. I. Metabolizm glukanów*, *Postępy Mikrobiologii*, **24**, 187–208 (1985).

Wpłynęło: 20 kwietnia 1999, zaakceptowano do druku: 23 sierpnia 1999.