إستخدام خميرة *Saccharomyces cerevisiae* في المعالجة الحيوية لبعض المعادن الثقيلة
Use of *Saccharomyces cerevisiae* in Bioremediation of Some Heavy Metals

محمد عمر محي الدين محمد عبد الرزاق الصوفي* عادل تركي موسى*
كلية الزراعة/ جامعة بغداد
*مركز بحوث السوق وحماية المستهلك
Mohammed Omar Muhyaddin Mohammed Al- Soufi* AdilTurkeiMousa*
University of Baghdad / College of Agriculture
*Market Research and Consumer Protection Center

الملخص

إستهدفت هذه الدراسة إمكانية إستعمال خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* في المعالجة الحيوية Bioremediation لبعض العناصر المعدنية الثقيلة Heavy metals. تم الحصول على عدد من عزلات الخميرة من مصادر مختلفة وأخضعت للفحوصات التشخيصية للتأكد من عائديتها الى *S. cerevisiae* تحديداً. درست قابلية العزلات المذكورة في ازالة المعادن تحت ظروف محددة من مدة التماس 24ساعة، والأس الهيدروجيني 6، ودرجة الحرارة 25 م وسرعة التحريك 150دورة / دقيقة، وباستعمال لقاح حجمه (1× 10^6خلية / مللتر) في محلول يحتوي على 1 ملغرام/ لتر من كل عنصر بشكل منفرد أو مجتمع وحسب التجربة. اظهرت العزلة Sc_6 تفوقا على بقية العزلات في إزالة أربعة عناصر بشكل منفرد وهي الكروم والرصاص والحديد والنحاس إذ بلغت كفاءتها 47.35% و70.87 % و95.15% و50.28% على التوالي، وبمعدل اجمالي هي 43.63%. اما معدل كفاءة إزالة كل من الرصاص والحديد والنحاس مجتمعة فكانت 81.18%. على أن معدل ازالة كل من الكروم والنيكل والكوبلت والكادميوم مجتمعة كانت 19.00%.

الكلمات المفتاحية: خميرة *Saccharomyces cerevisiae*، المعادن الثقيلة، المعالجة الحيوية

Abstract

The study aimed to use of baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae* in Bioremediation of some heavy metals. Several isolates were obtained from different sources. These isolates were subjected to serial diagnostic tests to ensure its belongings to *S. cerevisiae*. The ability of these isolations to remove of metal elements under constant conditions including incubation period (24 hours), pH (6), temperature 25C° and stirring speed (150 rpm / min) with inoculation size 1 × 10^6 cell / ml in a solution containing the metals in a concentration of 1 mg/ L as individual or as a collection were investigated. The results have been shown that the isolate which designated as Sc6 has the best ability to remove the metals over the all others. Chrome, Lead, iron and copper removing efficiency as individual by this isolate were 47.35%, 70.87%, 95.15% and 50.28%, respectively with a rate of 43.63%. While the rate of removal efficiency of lead, iron and copper as a group was 81.18%, but the rate of removal efficiency of chrome, nickel, cobalt and cadmium as a group was only 19.00 %.

Key word: *Saccharomyces cerevisiae* yeast, Heavy metals, Bioremediation.

المقدمة

تعد المعالجة الحيوية Bioremediation واحدةً من أكثر المعالجات أماناً ونظافة وذات قيمة فاعلة وتقنية صديقة للبيئة لتطهير المواقع الملوثة, وتستعمل في عملية المعالجة الحيوية مختلف الكائنات الحية مثل البكتيريا والخمائر والفطريات والطحالب والنباتات كأدوات رئيسية في معالجة تسرب النفط والعناصر المعدنية الثقيلة الموجودة في البيئة للحد من زيادة التلوث والمشاكل البيئية التي يواجهها الإنسان [1]. إن زيادة التلوث البيئي هو النتيجة الرئيسية للتنمية الصناعية، وخاصة التلوث بالمعادن الثقيلة على عكس العديد من الملوثات العضوية والتي في النهاية تتحلل إلى غاز ثاني أكسيد الكربون والماء, بينما لاتتحلل العناصر المعدنية, لكنها تتراكم في البيئة وبخاصة في البحيرات ومصبات الأنهار أو كرواسب بحرية بوتيرة متسارعة [2] فضلاً عن إنتقالها من بيئة الى أخرى مثل الماء والتربة والهواء والغذاء, مما يعقد مشاكل الأحتواء والمعالجة وبالتالي ستؤثر سميتها حتى بتراكيزها المنخفضة على كلٍ من الانسان والحيوان والنبات والكائنات المجهرية [3]. إن هذه العناصر السامة أضحت مشكلة العصر وغدت معالجتها أمراً لا مناص منه, والتقنيات التقليدية المتبعة في معالجتها والمتمثلة بالتقنيات الفيزيوكيميائية Physico-chemical مكلفة وقليلة الكفاءة وغير مناسبة في حالة النفايات السائلة التي تحتوي على مواد عضوية معقدة وتلوث بالمعادن الثقيلة بنسبة منخفضة [4]. إستعملت خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* كواحدة من البدائل الواعدة في المعالجة الحيوية للمعادن الثقيلة [5]. أشارت العديد من الدراسات الى ان *S.cerevisiae* أظهرت مستويات عالية من التحمل Tolerence لمختلف المعادن والفلزات، فقد إستعملت في إزالة عنصر الحديد Fe [6]، والكادميوم Cd [7] ، والنحاس Cu [8] من المحاليل المائية, وإزالة المعادن الثقيلة مثل الرصاص Pb والكادميوم من التربة [9]، والكوبالت والكادميوم من مياه الصرف الصناعي [10]، ومن الرماد المتطاير [11], وتتمتع خميرة *S.cerevisiae* بقابليتها على إزالة المعادن الثقيلة وكلفتها الاقتصادية المنخفضة وتوافرها بشكل كبير وسهولة التعامل معها على المستوى الجيني فضلاً عن إمكانية استرجاع بعض المعادن والأستفادة منها مجدداً في الاغراض التصنيعية [12].

المواد وطرائق العمل

جمع عينات المياه للتعرف على مستوى التلوث بالعناصر المعدنية

جمعت عينات مختلفة في شهر كانون الأول سنة 2012 من المخلفات الصناعية لكل من معمل طلاء (صلاح الدين) ومعمل أدوية سامراء الحاوي على وحدة معالجة, ومعمل المشروبات الغازية وتصنيع الألبان وصناعة الكجب والصاص الواقعة في (بغداد / المنطقة الصناعية عويريج),

والزيوت النباتية (بغداد/ معسكر الرشيد), ومخلفات تبديل محلول البطاريات (بغداد/ المنطقة الصناعية البياع) والتى ترمى مباشرة الى فتحات تصريف مياه الأمطار, ومياه الصرف لمدينة الطب (بغداد/ باب المعظم), فضلاً عن مياه نهر دجلة (بغداد/ الجادرية), ومياه أحواض تربية الأسماك مصدرها مياه البزل في الرضوانية, ونهر الفرات (المحمودية) والفرع الجانبي لمياه نهر الفرات ويطلق عليه نهر الكشك في منطقة الرضوانية أيضاً يستعمل كمصدر للشرب. تم مراعاة عدة عوامل مهمة عند أخذ العينات من النهر منها ملاحظة عدم تساقط الأمطار قبل يوم واحد على الأقل من أخذ العينة ومن مسافة تبعد 1 متر من حافة النهر وتم أخذ العينات من عمق 10-15 سم مع ملاحظة منسوب المياه حيث كان منخفض. جمعت العينات في قناني زجاجية نظيفة ومعقمة ولا تحتوي على إي نوع من أنواع المواد الكيميائيه وبواقع مكررين, وبحجم يقارب من لتر واحد. رشحت بوساطة ورق ترشيح نوع Whatman No.1 ثم بمرشحات غشائية دقيقة بفتحات قطرها 0.45 مايكرومتر, لغرض قياس المؤشرات الفيزيائية والكيميائية مثل الأس الهيدروجيني بوساطة مقياس الأس الهيدروجيني (pH meter) وقياس تراكيز العناصر المعدنية التي تضمنتها الدراسة وهي الرصاص والحديد والكروم والنحاس والكادميوم والكوبلت والنيكل, بوساطة جهاز الأمتصاص الذري.

عـزلات الخميرة

جمعت 7 نماذج من الخميرة الجافة المستوردة من مناشئ متباينة بعلامات تجارية مختلفة من الاسواق المحلية لمدينة بغداد في شهر تشرين الأول من سنة 2012, تضمنت هذه العزلات (Sc_7,Sc_2,Sc_1) من خمائر (Yuva, European , Saf_ Instant) التركية المنشأ, والعزلة (Sc_3) من خميرة (Laroyale) المصرية المنشأ, والعزلة (Sc_4) من خميرة (Fermi pan) الأوربية المنشأ, والعزلات (Sc_5, Sc_6) من خمائر (Angel, Aldnaamaya) الصينية المنشأ.

تنشيط وتنـقية عزلات الخـميرة

نشطت الخميرة الجافة وفقاً للطريقة التي وصفها [13] بتعليق 0.5 غم من مسحوق الخميرة وتلقيحها في انابيب حاوية على 10 مللتر من وسط Yeast extract glucose peptone broth (YEGPb) السائل لمدة نصف ساعة بدرجة 30 م تحت ظروف هوائية ونقلت منها ملء عروة الناقل المعقم وزرعت على وسط آكار Yeast extract glucose peptone Agar (YEPGA) بطريقة التخطيط. حضنت الأطباق بدرجة حرارة 30 م لمدة 48 الى 72 ساعة. أخذ عدد من المستعمرات النقية منها بطريقة مستقلة بوساطة الناقل ونشر بطريقة التخطيط على الوسط نفسه وكررت هذه العملية أكثر من مرة إمعاناً في التنقية. بعد ذلك درست الصفات الزرعية والمجهرية لمستعمرات الخميرة من حيث شكل المستعمرة وتجمعاتها وطريقة التبرعم وقطرها ولونها وإرتفاعها ورائحتها وغيرها من الصفات الأخرى, وبحسب ماورد في [14].

تحضير محاليل العناصر المعدنية القياسية

حُضرت محاليل العناصر المعدنية القياسية وفقاً لما ورد في [15] على هيئة أملاح تضمنت كلاً من $Pb(NO_3)_2$و$Cu(NO_3)_2$و$Co(NO_3)_2$و$Cd(NO_3)_2$و$Fe(NO_3)_2$ و$Nicl_2$ وK_2CrO_4 بنقاوة 99.99% وإستعملت بوصفها محاليل عناصر خزينة, وذلك بتركيز 1000 ملغرام / لتر, ومن خزين هذه المحاليل حُضرت المحاليل التي يتطلبها العمل بإسلوب التخفيف المتعاقب أما منفردة أو مجتمعة. وبتركيز 1 ملغرام / لتر وعقمت بطريقة الترشيح بوساطة مرشحات غشائية دقيقة بفتحات قطرها 0.45 مايكرومتر, ويذكر أن جميع الادوات الزجاجية المستعملة في تحضير المحاليل المائية للعناصر المعدنية قد عقمت وفقاً لما أشار اليه [16].

الغربلة الأولية لتعيين كفاءة عزلات الخميرة على إزالة العناصر المعدنية

أجريت الغربلة لمقارنة قابلية عزلات الخميرة في إزالة العناصر المعدنية, وفقاً لما ذكره [17], وذلك بإضافة كمية من اللقاح تركيزه 1×10^6 خلية / مللتر من محلول المعاملة وبتركيز 1 ملغرام / لتر لكل عنصر بشكل منفرد أو مجتمع وحسبما تتطلبه التجربة التي إستعمل خلالها لقاح حي. أجريت عملية الإزالة بدرجة الحرارة 25 م في حاضنة هزازة بسرعة تحريك مقدارها 150 دورة / دقيقة ومدة تماس 24 ساعة وبأس هيدروجيني 6(بإستعمال كل من هيدروكسيد الصوديوم ذي تركيز 0.1عياري أوحامض الهيدروكلوريك ذي تركيز 0.1 عياري لمعادلة الأس الهيدروجيني) في دوارق حجمية ذات سعة 250 مل و بواقع 100 مللتر في كل دورق وبواقع مكررين. ثم جمعت الخلايا بوساطة النبذ المركزي بسرعة مقدارها 5000دورة/ دقيقةلمدة 30 دقيقة, ومرر الراشح على مرشحات غشائية دقيقة بفتحات قطرها 0.45 مايكرومتر, ثم نقل الى أنابيب إختبار لغرض تقدير كمية المعادن المتبقية بوساطة جهاز المطياف الذري اللهبي ومنها قدرت النسبة المئوية للعناصر المعدنية المزالة :

$$\text{النسبة المئوية للازالة\%} = \frac{\text{تركيزالعنصر قبل الأزالة} - \text{تركيزالعنصر بعد الأزالة}}{\text{تركيزالعنصر قبل الأزالة}} \times 100$$

أن هذه التجربة أجريت على اربع مراحل وكما ياتي:

1. المرحلة الأولى: قدرت كمية العناصر المعدنية المزالة من قبل كل عزلة على الإنفراد والتي شملت كل من الكروم والنيكل والكادميوم والكوبلت والرصاص والحديد والنحاس.
2. المرحلة الثانية: قدرت كمية العناصر المعدنية المزالة بشكل مجتمع من قبل كل عزلة وشملت كل من الكروم والنيكل والكادميوم والكوبلت والرصاص والحديد والنحاس.
3. المرحلة الثالثة: قدرت كمية العناصر المعدنية المزالة من قبل كل عزلة بإستعمال ثلاث انواع من العناصر وهي كل من الرصاص والحديد والنحاس بشكل مجتمع.
4. المرحلة الرابعة: قدرت كمية العناصر المعدنية المزالة من قبل كل عزلة بإستعمال أربعة أنواع من العناصر وهي كل من الكروم والنيكل والكادميوم والكوبلت بشكل مجتمع.

إستعمل البرنامج الإحصائي SAS- Statistical Analysis System (2010) في تحليل بيانات التنائج التي تم الحصول عليها, وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار أقل فرق معنوي (LSD) بإحتمالية ($P \leq 0.05$) [18].

النتائج والمناقشة

تقدير مستوى تلوث عينات المياه بالعناصر المعدنية الثقيلة

حللت عينات المياه لمعرفة مقدار تلوثها بالعناصر المعدنية الثقيلة في بغداد وصلاح الدين من خلال النشاطات الصناعية والبشرية. وكما هو موضح في جدول (1).

جدول (1): قيم الأس الهيدروجيني وتراكيز العناصر المعدنية (ملغرام / لتر)

ت	المنطقة التي أخذت منها العينة	pH	التركيز (ملغرام / لتر)						
			Pb	Cu	Fe	Co	Cd	Ni	Cr
1	معمل طلاء	2.28	9.90	10.71	6.40	0.05	0.05	1.60	0.30
2	معمل أدوية سامراء	3.18	0.00	0.00	2.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	معمل مشروبات غازية	7.47	0.0 4	0.03	0.30	0.00	0.00	0.10	0.01
4	معمل تصنيع الألبان	6.84	0.04	0.01	0.02	0.00	0.00	0.10	0.01
5	معمل صناعة الكجب والصاص	4.57	0.07	0.01	2.00	0.07	0.02	0.00	0.01
6	معمل الزيوت النباتية	8.26	0.02	0.02	0.03	0.02	0.01	0.02	0.02
7	مخلفات تبديل محلول البطاريات	1	3.00	4.00	24.00	0.07	0.20	1.55	0.30
8	مياه الصرف لمدينة الطب	7.47	0.02	0.03	0.03	0.01	0.00	0.01	0.01
9	مياه نهر دجلة	7.26	0.02	0.02	0.01	0.01	0.00	0.03	0.01
10	مياه البزل	7.47	0.3	0.01	0.03	0.02	0.00	0.01	0.02
11	مياه نهر الفرات	8.20	0.04	0.01	0.02	0.01	0.00	0.01	0.01
12	مياه نهر الكشك	7.36	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01

وجد أن الأس الهيدروجيني يتباين في هذه المياه اعتماداً على طبيعة نشاط المعامل, كما وجد أن بعض العينات تحتوي من العناصر المعدنية المتنوعة بما تفوق التراكيز المقررة في المحددات العراقية لنظام صيانة الأنهار من التلوث / وزارة البيئة رقم 25 لسنة1967, فإذا ما أستثنينا مخلفات تبديل محلول البطاريات, والتي أحتوت على نسب عالية جداً من مختلف أنواع العناصر المعدنية, فإن معمل الطلاء يُعدّ من أكثر المعامل التي تساهم في تلوث المياه بالعناصر المعدنية الثقيلة لخلو المعمل من وحدة معالجة مياه الصرف. كما يلاحظ أن مياه البزل في منطقة الرضوانية تحتوي على الرصاص بتركيز 0.3 ملغرام/ لتر, مقارنة مع المحددات العراقية البالغة 0.1 ملغرام / لتر, على أن تركيز العناصر المعدنية لعينات نهري دجلة والفرات كانت ضمن الحدود المقررة, ربما لأنها أُخذت من سطح النهرين دونما التعمق, أو الأبتعاد كثيراً من الحافة. وعموماً فإن اعطاء تصور كامل عن مستوى تلوث المياه العراقية المصروفة من خلال النشاطات البشرية والصناعية تحتاج الى دراسات تتسم بالشمولية وبتكرار أخذ العينات والتوسع فيها. علماً بإن عدداً من الدراسات بهذا الخصوص قد جرت في العراق وأشارت الى وجود ملوثات من العناصر المعدنية فيها بنسب عالية [19, 20].

عزل وتشخيص عزلات الخمائر

تميزت عزلات الخميرة السبعة المنماة على وسط آكار YEPGA بتكوينها مستعمرات أتسمت بشكلها الدائري ذات اللون الأبيض أو المائل الى الكريمي الشاحب, بحافات منتظمة, ملساء , مرتفعة ومحدبة فوق سطح الآكار وذات قوام لزج, فيما أظهرت الفحوصات المجهرية للخلايا الخضرية بتصبغها بالمثيلين الأزرق وصبغة كرام بأنها كرويةإلىبيضويةالشكل, منفردة أومتجمعة, مصطفة بشكل يشبه خلايا النحل عند وجودها بكثافة عالية, كما لوحظ وجود نواة واضحة وفجوة واحدة كبيرة تشغل معظم أجزاء الخلية, ووجود البراعم في أكثر من طرف من اطراف الخلية تراوح عددها من 2 الى 6, وهذه الخواص مطابقة لخواص عزلات الخمائر التي تعود الى *S.cerevisiae* وفقاً لما أشار إليه [14].

كفاءة العزلات على إزالة العناصر المعدنية الثقيلة بشكل منفرد

يتبين من جدول (2), وجود تباين كبير في قدرة العزلات على إزالة العناصر المعدنية المستعملة في الدراسة بتركيز 1 ملغرام/ لتر وكلاً على إنفراد, إذ يلاحظ أن العزلات Sc_1 وSc_2 وSc_4 وSc_7 تميزت في إزالة عنصر واحد لكل منهم وهو الرصاص والنيكل والكروم والكادميوم وبنسب بلغت 74.97% و60.42% و50.59% و71.78% على التوالي وبفارق معنوي واضح عن بقية العزلات, على أن العزلة Sc_5 قد أخفقت في إزالة العناصر بنسب تفوق الآخريات إحصائياً, في حين العزلة Sc_3 فاقت آخرياتها في إزالة عنصر الكوبلت وبنسبة بلغت 85.90%. بينما تبين أن العزلة Sc_6 تميزت بقدرتها على إزالة أربعة عناصر وبفارق معنوي وهي الكروم والرصاص والحديد والنحاس وبنسب 47.35% و70.87 % و95.15% و50.28% على التوالي, ولإكمال الدراسة بأختيار الأكفأ بين العزلات. اجريت تجارب لاحقة لمعرفة قدرة هذه العزلات على إزالة العناصر المعدنية بشكل مجاميع, جزءاً أو كلاً.

جدول (2): كفاءة إزالة العناصر المعدنية بشكل منفرد بإستعمال عزلات الخميرة *S.cerevisiae*

	كفاءة الإزالة (%)						
رقم العزلة	Cu	Fe	Pb	Cd	Co	Ni	Cr
Sc_1	62.01 ± 2.14	55.13 ±2.48	74.97 ± 3.06	50.83 ± 2.58	16.75 ±0.78	6.61 ±0.82	43.87 ±2.36
Sc_2	41.66 ± 1.94	50.36 ±2.19	63.94 ± 3.15	16.75 ± 0.84	32.10 ±1.33	60.42 ±4.28	46.45 ±1.93
Sc_3	49.83 ± 2.81	32.31 ±1.73	69.45 ± 2.78	18.73 ± 1.24	85.90 ±6.72	12.88 ±0.93	44.77 ±1.87
Sc_4	23.55 ± 1.25	34.89 ±1.08	61.81 ±3.50	21.51 ±1.04	47.53 ±2.55	12.79 ±0.78	50.59 ±2.06
Sc_5	22.67 ± 0.95	46.36 ±2.66	13.86 ± 0.82	30.86 ± 1.79	21.94 ±1.08	43.68 ±2.75	45.55 ±2.17
Sc_6	50.28 ± 2.38	95.15 ±6.71	70.87 ±2.19	60.01 ± 3.63	33.09 ±1.63	45.51 ±2.18	47.35 ±3.04
Sc_7	21.17 ± 1.05	80.27 ±4.83	46.12 ± 2.49	71.78 ± 3.93	15.67 ± 0.85	19.42 ±1.08	48.14 ±1.94
LSD Value	8.466*	9.429*	11.903*	7.673*	8.920*	8.534*	3.483*

* أقل فرق معنوي على مستوى ($P \leq 0.05$)
± الخطأ القياسي Standard error

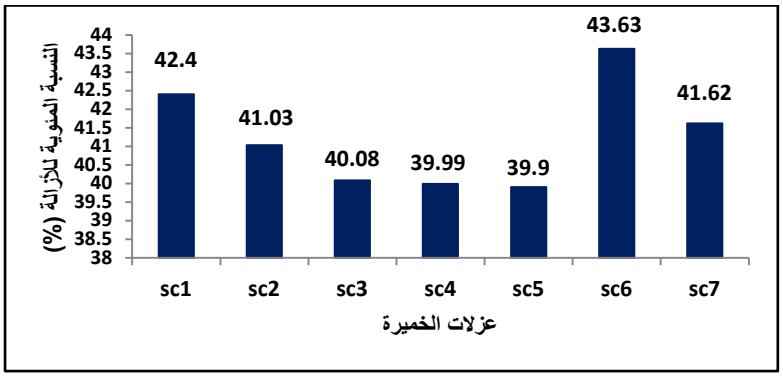
كفاءة العزلات على إزالة العناصر المعدنية مجتمعة

يوضح جدول (3) وشكل (1) معدل كفاءة العزلات في إزالة العناصر المعدنية مقدرة كنسبة مئوية, إذ تراوح من 39.90% الى 43.63% وتفوقت العزلة Sc_6 على بقية العزلات بكفاءتها في إزالة عنصر الكادميوم بفارق معنوي عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$ وبنسبةإزالة بلغت 26.99% وبفارق معنوي في معدل إزالة جميع العناصر مقارنة مع العزلات الأخرى. ويلاحظ من خلال هذا الجدول أن قدرة جميع العزلات على إزالة عنصر الرصاص كانت بفروق غير معنوية. وأن العناصر المتمثلة بالرصاص والحديد والنحاس أكثر إستقطاباً من قبل عزلات الخميرة تليها النيكل والكادميوم والكوبلت, وكان ميل العزلات لأزالة عنصر الكروم معدوماً تماماً. وبناءً على هذه النتائج درست قابلية العزلات السبعة في إزالة العناصر المعدنية على شكل مجاميع اشتملت على الحديد والرصاص والنحاس مرة, وعلى الكروم والنيكل والكوبلت والكادميوم مرة أخرى, وذلك بغية التعرف على وجود تأثير متبادل بين هذه العناصر من عدمه, عند معالجتها بالعزلات المذكورة.

جدول (3): كفاءة إزالة العناصر المعدنية مجتمعة بإستعمال عزلات الخميرة*S.cerevisiae*

	كفاءة الإزالة (%)							
رقم العزلة	Cu	Fe	Pb	Cd	Co	Ni	Cr	المعدل
Sc_1	56.38 ±2.35	90.23 ±3.18	98.37 ± 5.32	13.65 ±0.93	14.63 ± 0.74	23.55 ±1.25	0.00 ± 0	42.40 ±2.74
Sc_2	40.72 ±2.09	97.01 ± 4.96	97.55 ±4.29	17.58 ± 0.84	3.19 ± 0.07	31.21 ±2.08	0.00 ± 0	41.03 ±1.92
Sc_3	37.15 ±1.81	98.22 ±4.38	98.37 ±4.92	18.62 ±1.03	3.58 ± 0.04	24.68 ±1.49	0.00 ± 0	40.08 ±2.59
Sc_4	46.47 ±2.37	93.90 ±3.23	96.81 ±5.72	15.13 ±0.72	2.05 ±0.02	25.61 ±1.28	0.00 ± 0	39.99 ±2.67
Sc_5	53.61 ±2.19	97.23 ±4.72	97.55 ±4.88	8.14 ±0.71	0.00 ±0.0	22.79 ±0.92	0.00 ± 0	39.90 ±2.44
Sc_6	45.33 ±2.87	98.61 ±5.71	97.56 ±4.82	26.99 ±1.28	9.43 ±0.53	27.53 ±2.38	0.00 ± 0	43.63 ±2.94
Sc_7	43.59 ±2.17	97.51 ±4.38	97.53 ±5.02	26.34 ±2.73	5.31 ±0.64	21.09 ±1.47	0.00 ± 0	41.62 ±3.05
LSD Value	8.910*	6.081*	8.703^{NS}	4.629*	2.558*	4.682 *	0.00^{NS}	7.33^{NS}

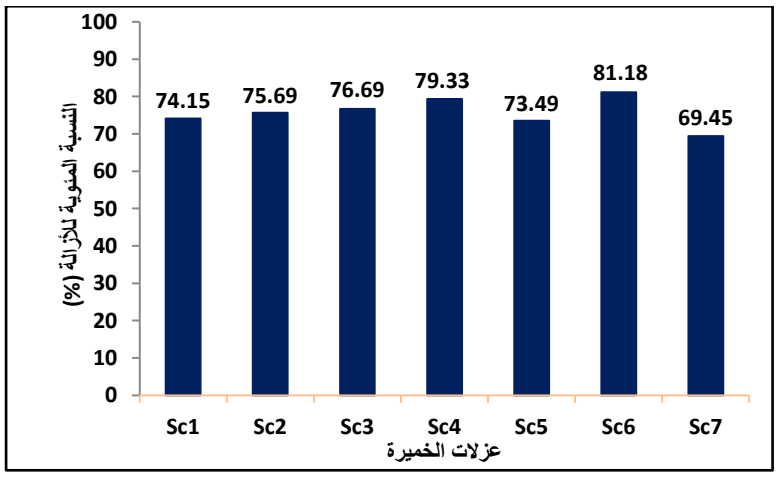
* أقل فرق معنوي على مستوى ($P \leq 0.05$)
N لأيوجد فرق معنوي بين العزلات
± الخطأ القياسي Standard error



شكل (1): معدل كفاءة إزالة العناصر المعدنية مجتمعة بإستعمال عزلات الخميرة*S.cerevisiae*

كفاءة العزلات على إزالة الرصاص والحديد والنحاس مجتمعة

تبين من خلال التجربة السابقة بأن هنالك تنافس من قبل العزلات جميعاً على إزالة كل من عنصر الحديد والرصاص والنحاس بشكل واضح, ولم يلاحظ ذلك في إزالة النيكل والكوبلت والكادميوم بإستثناء الكروم الذي كان إمتزازه على العزلات معدوماً, رغم أنه قد ازيل عند معاملته بشكل منفرد وبنسب اختلفت من عزلة الى أخرى. لذا تم دراسة العزلات على إزالة العناصر المعدنية على شكل مجاميع اشتملت المجموعة الأولى على العناصر ذات الإمتزاز العالي, والثانية ذات الإمتزاز المنخفض. يتضح من شكل (2) وجدول (4) معدل كفاءة نسب الإزالة لعنصر الرصاص والحديد والنحاس مجتمعة, إذ تراوح من 69.45% الى 81.18% وأظهرت العزلة Sc_6 مرة أخرى تفوقاً في معدلات كفاءة الإزالة بفارق معنوي عن الأخربات من العزلات وبنسبة بلغت 81.18%، تلتها Sc_4 وبنسبة إزالة 79.33% ثم Sc_3 وبنسبة إزالة 76.69%. وكانت كفاءة إزالة الحديد والرصاص تفوق كفاءة إزالة النحاس.



شكل (2): معدل كفاءة إزالة الرصاص والحديد والنحاس مجتمعة بإستعمال عزلات الخميرة*S.cerevisiae*

جدول (4): كفاءة إزالة الرصاص والحديد والنحاس مجتمعة باستعمال عزلات الخميرة *S.cerevisiae*

رقم العزلة	كفاءة الإزالة (%)			
	Cu	Fe	Pb	المعدل
Sc_1	31.52 ±2.46	98.55 ±5.32	92.39 ±4.62	74.15 ±3.38
Sc_2	42.21 ±2.75	98.55 ±4.25	86.32 ±3.85	75.69 ±3.91
Sc_3	41.66 ±2.93	99.82 ±4.38	88.59 ±4.73	76.69 ±2.65
Sc_4	43.94 ±2.18	97.82 ±4.72	96.24 ±4.28	79.33 ±3.53
Sc_5	43.81 ±3.04	98.73 ±3.28	77.93 ±3.13	73.49 ±2.87
Sc_6	47.27 ±2.58	99.64 ±6.74	96.63 ±5.74	81.18 ±4.74
Sc_7	27.58 ±1.03	96.77 ±4.69	84.02 ±4.28	69.45 ±3.28
LSD Value	8.052 *	8.307^{NS}	9.438 *	6.392 *

* أقل فرق معنوي على مستوى ($P \leq 0.05$)
NS لأيوجد فرق معنوي بين العزلات
± الخطأ القياسي Standard error

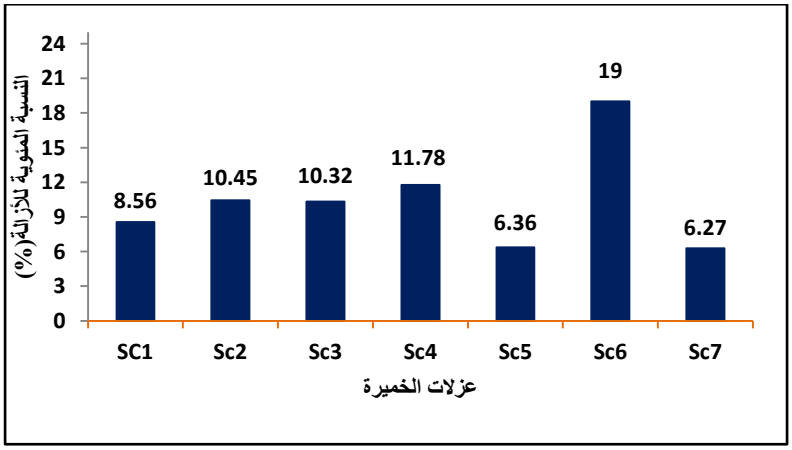
كفاءة العزلات على إزالة الكروم والنيكل والكوبلت والكادميوم مجتمعة

يوضح جدول (5) وشكل (3) تنافس العزلات المدروسة بقابليتها على إزالة العناصر الأربعة, إذ يلاحظ أن مستويات الإزالة من قبل العزلات كانت مقاربة عما وجد في دراسة العناصر السبعة مجتمعة جدول (3) كما يلاحظ تغير سلوك العزلات تجاه العناصر, إذ يتبين أن عنصر الكروم يتم إمتزازه من قبل العزلات بغياب كل من الحديد والرصاص والنحاس الجدولين (2،5), كما ثبت تفوق عزلة Sc_6 في معدل إزالتها للعناصر الأربعة, إذ بلغ 19.00% وبفارق معنوي, فيما بلغت أقل معدل إزالة للعزلة Sc_5 6.36% فقط.

جدول (5): كفاءة إزالة الكروم والنيكل والكوبلت والكادميوم مجتمعة باستعمال عزلات الخميرة *S.cerevisiae*

رقم العزلة	كفاءة الإزالة (%)				
	Cd	Co	Ni	Cr	المعدل
Sc_1	12.38 ± 0.52	0.00 ± 0	4.02 ±0.75	17.86 ± 1.02	8.56 ± 0.62
Sc_2	10.59 ± 0.84	0.00 ± 0	12.35 ±0.82	18.88 ±0.74	10.45 ± 0.49
Sc_3	8.41 ± 0.69	2.22 ± 0.04	15.37 ±0.69	15.31 ±0.68	10.32 ±0.5
Sc_4	18.68 ± 1.05	7.22 ± 0.12	7.96 ± 0.83	13.27 ±0.59	11.78 ± 0.62
Sc_5	11.25 ± 0.75	11.38 ± 0.53	1.31 ± 0.04	1.53 ±0.07	6.36 ± 0.35
Sc_6	23.32 ± 1.45	13.88 ± 0.49	18.37 ± 0.74	20.45 ±1.03	19.00 ± 0.82
Sc_7	10.88 ± 0.53	3.05 ± 0.07	6.59 ± 0.54	4.59 ± 0.42	6.27 ± 0.91
LSD Value	6.842*	3.271*	6.891*	5.382*	4.753*

* أقل فرق معنوي على مستوى ($P \leq 0.05$)
± الخطأ القياسي Standard error



شكل(3): كفاءة إزالة الكروم والنيكل والكوبلت والكاديوم مجتمعة باستعمال عزلات الخميرة*S.cerevisiae*

ومن التجارب الأربعة السابقة يتبين:

إن عزلات الخمائر تتباين فيما بينها في إزالة العناصر المعدنية, وإن هذه العناصر تتنافس فيما بينها على الارتباط على سطح خلايا العزلة Sc_6, وإن معاملة الخلايا بالعناصر المعدنية على شكل مجاميع اشتملت الكروم والنيكل والكادميوم والكوبلت, تعطي الفرصة على إزالة عنصر الكروم بشكل واضح بعيداً عن وجود الرصاص والحديد والنحاس, ويذكر في هذا الصدد أن وجود التباين في إزالة العناصر المعدنية من قبل الأحياء المجهرية يعود الى تباين التركيب الكيميائي لجدار خلاياها, وما عليها من المجاميع الفعالة مما تتسبب في إختلاف السعة الإمتزازية وتباين ألفة الكائن المجهري على إزالة العناصر المعدنية, والسعة الإمتزازية لاتعتمد على جنس ونوع الكائن المجهري فحسب وأنما على عدة عوامل أخرى, منها الحالة الفسلجية للكائن, والحالة الكيميائية للمواقع الفعالة التي تتغير في ضوء الظروف البيئية التي يتواجد فيها من درجة الحرارة والأس الهيدروجيني [21] فكلما توافرت مواقع أكثر جاهزة للإرتباط كلما زادت كفاءة عملية الامتزاز الحيوي [22,17] وإتفقت نتيجة التجارب السابقة عموماً مع الدراسة التي أجراها Filipovic-Kovacevic [27] والتي أشار فيها الى التباين في إزالة الكاديوم بين عزلات خميرة *S.cerevisiae*. وقد أشار Gupta [24] الى أن أهم المجاميع الفعالة المساهمة في عملية الإمتزاز هي الهيدروكسيل OH والكاربوكسيل COOH والثايول SH, والأمين NH_2, وأوضح Parvathi [25] تأثير هذه المجاميع الفعالة الموجودة على سطح الجدار الخلوي لإزالة عنصر الرصاص من قبل خميرة *S.cerevisiae* وآلية عملها. وتشير الدراسات السابقة أن العناصر المعدنية المختلفة تتنافس فيما بينها على مواقع الربط الفعالة على سطح الكائن المجهري اعتماداً على نوعها وتركيزها والصيغة التي توجد بها بشكل حر أو معقد والحالة التكافؤية للعنصر [17], فقد وجد Lopez [26] أن النيكل أكثر ألفة على الإمتزاز مقارنة ببعض العناصر الثقيلة ومنها الكروم. وأتفقت مع دراسة أخرى [27] وجد فيها أن الفطر *Aspergillus niger* يمتز النيكل بتركيز اكبر من الكروم. كما تشير الى أن المجموعة الأكثر فعالية من بين مواقع الربط تتمثل بالكاربوكسيل التي تستقطب معظم العناصر وتكون معها معقدات بقوة إرتباط عالية [28, 21]. ويمكن تفسير عدم قابلية العزلات قيد الدراسة على إزالة عنصر الكروم بالاتفاق مع ماذكره Bopp [29] أن الكروم السداسي غير ذي فائدة لجميع الكائنات الحية, فمن المحتمل أن تتم مقاومته إما عن طريق إختزاله أو عن طريق ضخه بآلية يطلق عليها الضخ الدفقي (Effluex pump) وهي آلية تستعملها الكائنات المجهرية كوسيلة لمقاومة بعض العناصر المعدنية لطردها الى خارج الخلية عبر الغشاء الخلوي للتخلص من سميتها المحتملة. والكروم الذي تم إستعماله في الدراسة هو الكروم السداسي وهو من الأيونات السالبة الاوكسيجينية, والذي يجهد الخلايا عند إرتباطه بها, مما يقودها الى طرده خارج الخلية, كما أن الأس الهيدروجيني للبيئة يلعب دوراً مهماً في إمتزازه, عندما يكون بشكل كرومات, فإرتباطه بالخلية سوف يجهدها, لذلك تعمد الى مقاومته من خلال اختزاله وطرده الى خارج الخلية. وقد أشارت دراسات أخرى [30, 21] أن الأس الهيدروجيني للكروم يلعب دوراً مهماً في إمتزازه, إذ أن الأس الهيدروجيني المثالي يكون ما بين 2 الى 3. كما يشير Talebi [31] الى أن إمتزاز الرصاص يتأثر بوجود العناصر الأخرى عند تقديره بجهاز المطياف الذري اللهبي وبنسبة تتراوح مابين 95.9% الى 98.9% واعتماداً على العنصر المرافق.

الاستنتاجات

من خلال إستعراض نتائج الدراسة يمكن إستعمال خميرة *S.cerevisiae* كأحد الكائنات المجهرية الكفوءة في المعالجة الحيوية للعناصر المعدنية الثقيلة ولاسيما العزلة التي شخصت في هذه الدراسة والتي رمز لها Sc_6 في إزالة سبعة عناصر معدنية من المحاليل المائية بكفاءة عالية سواء أكانت بصورة مجتمعة أو على الانفراد أو على نحو مجاميع. عند ضبط الظروف الملائمة من درجة الحرارة, والرقم الهيدروجيني, ومدة التماس (الحضن), وسرعة التحريك, وحجم اللقاح للوصول إلى مستوى جيد من إزالة هذه العناصر المعدنية.

المصادر

1. Bhatnagar, S. and Kumari, R. (2013). Bioremediation: A Sustainable Tool for Environmental Management- A Review. Annual Review and Research in Biology. 3(4): 974-993.
2. Cvijovic, M., Djurdjevic, P., Cvetkovic, S. and Cretescu, I. (2010). A case study of industrial water polluted with chromium (VI) and its impact to river recipient in western Serbia, Environmental Engineering and Management Journal. 9 (1): 45-49.
3. Wuana, R. A. and Okieimen, F. E. (2011). Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. ISRN Ecology. doi:10.5402/2011/402647.

4. Hamza, S. M., Ahmed, H. F., Ehab, A. M. and Mohammad, F. M. (2010). Optimization of Cadmium, Zinc and Copper biosorption in an aqueous solution by *Saccharomyces cerevisiae*.Journal of American Science. 6(12): 597-604.

5.Damini, D., Sukriti, P., Devi, C.S., Selvarajan, E.,Suganthi V., and Mohanasrinivasan. V. (2013). Removal of Heavy Metals from Leather Industry Effluent Using *Saccharomyces sp*In a Packed Bed Reactor. Research J. Engineering and Tech. 4(2):53-56.

6.Goyal, N., Jain, S. C. and Banerjee, U. C. (2003).Comparative studies on the microbial adsorption of heavy metals. Adv. in Env. Res.7(2): 311-319.

7. Liu, X. F., Supek, F., Nelsoni, N. and Culotta, V. C. (1997). Negative control of heavy metal uptake by the *Saccharomyces cerevisiae* BSD2Gene. The J. of Biol. Chem. 272 (18):11763–11769.

8. Machado, M. D., Janssens, S., Soares, H. M. V. M. and Soares, E. V. (2009). Removal of heavy metals using a brewer's yeast strain of *Saccharomyces cerevisiae* advantages of using dead biomass. J. Appl. Microbiol.106 (6): 1792-1804. doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04170.x.

9.Damodaran, D., Suresh, G. and Mohan R. B. (2011). Bioremediation of soil by removing heavy metals using *Saccharomycescerevisiae*. 2nd International Conference on Environmental Science and Technology. IPCBEE. 6: 22-27.

10. Nizam, A. and Baznjaneh, R. (2012).Use of *Saccharomyces Cerevisiae* in Biological Treatment for Heavy Metals Uptake from Industrial Wastewater. Journal of University of Al-Najah for Research (Natural Sciences). 26:101-117.

11. Raja, R. P., Pallavi, D. and Venkateshwarlu T. (2014). Removal of heavy metals in fly ash by using *Saccharomyces Cerevisiae* .Intern.J.App.Engin. Res. 9(1):107-114.

12. Wang, J. and Chen, C. (2009). Biosorbents for heavy metals removal and their future. Biotechnology Advances. 27 (2):195-226.

13. Herrero, M. B., deLamirande, E. and Gagnon, C. (1999). Nitric oxide regulates human sperm capacitation and protein-tyrosine phosphorylation *in vitro*. Biology of Reproduction. 61(3) : 575-81.

14. Barnett, J. A., Payne, R. W., and Yarrow, D. (2000). Yeasts: characteristics and identification, 3rd ed., Cambridge. University press. England.

15.(APHA) American Public Health Association. (1998). Standard methods for examination of water and waste water, 20th ed., APHA press.

16. Quintelas, C., Fernandes, B., Castro, J., Figueiredo, H. , Tavares, T. (2008). Biosorption of Cr (VI) by three different bacterial species supported on granular activated carbon-A comparative study. J. Hazard. Mat. 153:799-809.

17. Voleskey, B. (2004). Sorption and biosorption. Sorbex, INC, St. Lambert, Quebec. 36-103.

18.(SAS) Statistical Analysis System. (2010). User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed., SAS. Inst. Inc. Cary.N.C. USA.

19. Hassan, F. M., Saleh, M. M. and Salman, J. M. (2010). A study of physicochemical parameters and nine heavy metals in the Euphrates river. Iraq. E. Jornal of Chemistry. 7 (3): 685- 692.

20. سلمان, جاسم محمد. (2007). التراكم الحيوي لبعض العناصر الثقيلة في النبات المائي *Myriophyllumdemersum*. مجلة أم سلمة للعلوم. 4 (3): 358 – 362.

21. Ilhan, S., Nourbakhsh, M. N., kilicarslan, S. and Ozdag, H. (2004). Removal of chromium, lead and copper ions form industrial wastewater by *Staphylococcus saprophyticus*. Turkish electronic J. Biotechnol. 2:50-57.

22. Vijayaraghavan, K. and Yun, Y-S. (2008). "Bacterial biosorbents and biosorption". Biotechnology Advances. 26: 266–291.

23.TÁLOS, K., PÁGER, C., TONK, S., MAJDIK, C., KOCSIS, B., KILÁR, F. and PERNYESZI,T. (2009). Cadmium biosorption on native *Saccharomyces cerevisiae* cells in aqueous suspension. Acta Universitatis Sapientiae Agriculture and Environment.1: 20-30.

24. Gupta, R., Ahuja, P., Khan, S., saxena, R. K. and Mohapatra, H. (2000). Microbial biosorbents : Meeting challenge of hevy metal pollution in aqueous solution Current Science. 78 (8).

25. Parvathi, k, Nagendran, R. and Nareshkumar, N. (2007). Lead biosorption onto waste beer yeast by-product, a means to decontaminate effluent generated from battery manufacturing industry. Electronic Journal of Biotechnology.10 (1).

26. Lopez, A., Lazaro, N., Priego, J.M. and Marques, A. M. (2000). Effect of pH on the biosorption of Nickel and other heavy metals by Pseudomonas florescens 4F39. J. Indust. Microbiol. Biotechnol. 24:146-157.

27. Filipovic-Kovacevic, Z., Sipos, L. andBrisiki, F. (2000). Biosorption of chromium, copper, nickle and zinc ions on to fungal pellets of *Aspergillusniger* 405 from aqueous solution. Food technol. Biotechnol.38:211-216.

28. Naja, G. M., Mustin, C.,Voleskey, B. and Bertheline, J. (2005). Ahigh- resolution titrator: a new approach to studying binding sites of microbial biosorbents. Water Research. 39:579-588.

29. Bopp, L. H. and Ehrlich, H. L. (1988). Chromate resistance and reduction in Pseudomonas fluorescens strain LB300. Archives of Microbiology.150(5):426-431.

30. Loukidou, M. X., Zouboulis, A. I., Karapantsions, T. D. and Matis, K. A. (2004). Equilibrium and kinetic modeling of Cr (VI) biosorption by *Aeromonascaviae*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering. 242:93-104.

31. Talebi, S. M. and Safigholi, H. (2007). Determination of lead in water resources by flame atomic absorption spectrometry after pre-concentration with ammonium pyrrolidinedithio carbamate immobilized on surfactant-coated alumina. J. Serb. Chem. Soc. 72 (6): 585–590. doi: 10.2298/JSC0706585T.