

# تثبیت مخمر ساکارومایسس سرویزیه بر روی بستر آلزینات به منظور حذف ایوپروفن از محلول های آبی

کبری طهماسبی<sup>۱</sup>، روشنک رضایی کلانتری<sup>۳،۲</sup>، علی اسرافیلی<sup>۳،۲</sup>، سجاد مظلومی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

<sup>۲</sup> گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

<sup>۳</sup> مرکز تحقیقات تکنولوژی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

<sup>۴</sup> گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۹۸/۱۱/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۹/۵/۲۶

## چکیده

**زمینه و هدف:** ایوپروفن یکی از پرمصرف ترین داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی است که از طریق کارخانجات سازنده و دفع پساب بیمارستانی و حتی فاضلاب خانگی به منابع آبی وارد می شود. هدف از این مطالعه، حذف ایوپروفن در فرآیند تجزیه زیستی به وسیله مخمر ساکارومایسس سرویزیه تثبیت شده بر روی بستر آلزینات از محلول های آبی می باشد.

**مواد و روش ها:** این پژوهش، یک مطالعه تجربی-آزمایشگاهی می باشد. در این مطالعه تاثیر پارامترهای غلظت مخمر (g/100ml) ۰/۳-۰/۱، غلظت اولیه ایوپروفن (mg/l) ۳۵۰-۵۰، زمان تماس ۳۰-۱ ساعت و pH اولیه محلول (۴-۷) بر فرآیند تجزیه زیستی ایوپروفن با مخمر ساکارومایسس تثبیت شده بر روی بستر آلزینات مورد بررسی قرار گرفت آزمایشها با استفاده از روش سطح پاسخ در نرم افزار 7 Design Expert با استفاده از روش Box- Behnken طراحی و بهینه سازی گردید.

**یافته ها:** یافته های این مطالعه نشان داد حداکثر حذف ایوپروفن توسط مخمر تثبیت شده بر روی آلزینات ۹۳/۵ درصد در ۵/۵ pH، غلظت مخمر (g/100ml) ۰/۲، زمان ۳۰ ساعت و غلظت اولیه ۵۰ mg/L ایوپروفن است.

**نتیجه گیری:** بر مبنای نتایج این مطالعه می توان بیان نمود که مخمر ساکارومایسس سرویزیه تثبیت شده توانایی تجزیه بیولوژیکی ایوپروفن را با کمترین هزینه و راندمان بالا دارا است و می توان از این روش مقرون به صرفه جهت تصفیه فاضلاب های دارویی استفاده نمود.

**کلمات کلیدی:** ایوپروفن، تجزیه بیولوژیکی، مخمر ساکارومایسس سرویزیه، آلزینات، محلول های آبی

## مقدمه

با پیشرفت صنایع و افزایش جمعیت مواد شیمیایی جدیدی کشف و مورد استفاده قرار گرفته اند که مقادیر زیادی از آنها روزانه از طریق جریان های فاضلاب وارد محیط زیست و منابع آب های طبیعی می شوند. امروزه از بین آلاینده های متنوع آبی در سرتاسر دنیا داروها به عنوان آلاینده های بالقوه منابع آبی شناخته می شوند و با قرار گرفتن در دسته آلاینده های نوظهور (Emerging Contaminants) باعث ایجاد نگرانی های شده اند.<sup>۱</sup> دفع داروهای مراقبت پزشکی انسان و حیوان منبع اصلی آلودگی آب و خاک توسط ترکیبات دارویی می باشد. از منابع دیگر؛ نشر از مکان های تولید، نشت های تصادفی کارخانه ها، دفع مستقیم داروهای اضافی در خانه ها، نشت های زیرزمینی از تاسیسات فاضلاب، درمان دارویی احشام نیز از منابع مهم می باشند.<sup>۲</sup> ایوپروفن به عنوان یک ترکیب آلی پیچیده و ماده آلی سخت تجزیه پذیر استفاده می شود. ایوپروفن با نام علمی ۲-(۳- (۲- متیل پروپیل) فنیل) پروپیونیک اسید از جمله داروهای مسکن غیره التهابی (Nonsteroidal anti-inflammatory drugs) NSAID و یکی از داروهای ضروری فهرست شده به وسیله سازمان جهانی بهداشت است.<sup>۳، ۴</sup> یکی از پرمصرف ترین و پرفروش ترین داروها در جهان ایوپروفن می باشد. ایوپروفن، سومین داروی پرمصرف و پر فروش در جهان می باشد. ایوپروفن، سومین داروی پرمصرف و پر فروش در جهان می باشد و در بررسی های انجام شده توسط WHO در سال ۲۰۰۶، میزان انتشار آن در محیط ۲۸ تن در سال می باشد.<sup>۵</sup> ایوپروفن در آب های سطحی در نقاط مختلف جهان در غلظت های نانوگرم تا میکروگرم در لیتر اندازه گیری شده است. نیمه عمر این ماده در محیط ۳۲ روز تخمین زده شده است.<sup>۴</sup> ایوپروفن به سرعت به شکل کونژگیت های مختلف مثل هیدروکسی IBP-، کربوکسی IBP- و کربوکسی-هیدراتروپیک اسید دفع شده که نه تنها سمیت حاد بالایی دارد، بلکه همچنین مشکوک به مختل

کننده فعالیت های غدد درون ریز در انسان و حیوان می باشد.<sup>۶</sup> ایوپروفن در غلظت های موجود در منابع آبی می تواند اثرات منفی بر تولید مثل مهره داران و بی مهرگان، رشد برخی از سویه های باکتریایی و قارچ ها و رشد سلول های جنین انسانی داشته باشند.<sup>۷، ۸</sup> تاکنون روش های مختلفی جهت حذف این آلاینده ها به کار برده شده است از قبیل؛ جذب، انعقاد، ترسیب و ... معایب این فرایندها، این است که نه تنها باعث حذف کامل آلاینده نشده اند، باعث انتقال فازی آنها شده اند. مشکل دیگر مربوط به هزینه های بهره برداری بالا با وجود کارایی حذف پایین و به وجود آمدن آلودگی های ثانویه در نتیجه ی تولید محصولات واسطه می باشد.<sup>۸-۱۰</sup> یکی از روش های حذف باقی مانده های دارویی از محیط های آبی، استفاده از مخمرها می باشد. مخمر ساکارومایسس سرویزیه یک قارچ میکروسکوپی است. که تحت نام مخمر نانویی شناخته شده است یک مخمر ارزان قیمت و کم هزینه می باشد.<sup>۱۱</sup> یکی از مزایای *S. Cerevisiae* انتخابی بودن آن در انتقال فعال و همچنین رقابتی بودن آن در بحث جذب بیولوژیکی می باشد.<sup>۱۲، ۱۳</sup> حذف آلاینده ها با سلول های قارچی بر این اساس است که آلاینده های هدف می توانند در سطح قارچ ها یا داخل سلول جذب شوند و بعدا توسط آنزیم های خارج سلولی و درون سلولی تخریب شوند همچنین جذب بیولوژیکی ترکیبات دارویی آگریز باعث تجزیه بیولوژیکی آنها می شود.<sup>۱۴، ۱۵</sup> استفاده از سلول های تثبیت شده یک راه حل بالقوه برای کاربرد در مقیاس صنعتی است زیرا امکان استفاده مجدد از سلول ها و عملکرد مداوم را فراهم می کند و هزینه های عملیاتی را کاهش می دهد. علاوه بر این، تثبیت سلول ها باعث افزایش پایداری و سطح تماس سلول ها، محفوظ نگه داشتن آنها از تغییرات مستقیم عوامل فیزیوشیمیایی محیط می شود و امکان حذف را افزایش می دهد.<sup>۱۵</sup> Mehtap Ers در سال ۲۰۱۶ مطالعه ای در مورد حذف آنتی بیوتیک تتراسایکلین از محیط های آبی توسط

آلژینات سدیم، کلرید کلسیم، اسیدکلریدریک و سدیم هیدروکسید از شرکت مرک آلمان خریداری شد و تمام محلول سازی ها با آب مقطر انجام گرفت. برای انجام آزمایشات از ظروف شیشه ای با حجم مشخص (۲۵۰ میلی لیتری حاوی ۱۰۰ میلی لیتر مخلوط واکنش) استفاده شد.

## تثبیت سازی سلول های مخمر بر روی بستر آلژینات

برای تثبیت سلول های مخمر در آلژینات ابتدا محلول ۴ درصد (۴ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر) از آلژینات سدیم تهیه شد و در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شد تا استریل گردد و به آن مخمر با مقدار ۰/۲، ۰/۱ و ۰/۳ درصد (گرم در ۱۰۰ میلی لیتر) اضافه و هم زده شد تا یکنواخت شود. در بشر جداگانه ای به حجم ۵۰۰ میلی لیتر، مقدار ۰/۱۵ لیتر محلول کلرید کلسیم ( $\text{CaCl}_2$ ) درصد (گرم در ۱۰۰ میلی لیتر) آماده شد. سپس به کمک سرنگ ۱۰۰ سی سی استریل، همزمان که بشر روی همزن قرار دارد، مخلوط آلژینات و مخمر به صورت قطره چکانی اضافه گردید. قطره های حاوی آلژینات سدیم، پس از قرار گرفتن درون بشر حاوی کلرید کلسیم، به گویچه های آلژینات کلسیم تبدیل شدند.

ساکارومایسس سرویزیه در کنار پلی پروپیلن و پلی استایرن انجام داد نتایج نشان داد که مخمر ساکارومایسس در حذف آنتی بیوتیک تتراسایکلین موثر و صرفه اقتصادی بالایی دارد.<sup>۱۶</sup> Satinder Kaur Brar و همکاران در سال ۲۰۱۸ مطالعه ای با عنوان حذف ترکیبات دارویی با استفاده از قارچ ها از آب و فاضلاب پرداختند نتایج نشان دهنده راندمان بالای ۹۰ درصد حذف ایبوپروفن بود.<sup>۱۵</sup> هدف از این مطالعه تعیین کارایی مخمر ساکارومایسس سرویزیه تثبیت شده بر روی بستر آلژینات کلسیم در شرایط آزمایشگاهی در حذف داروی ایبوپروفن از محلول های آبی است. براساس مطالعات ما این گزارش اولین مطالعه در ارتباط با حذف ایبوپروفن توسط مخمر ساکارومایسس سرویزیه تثبیت شده بر روی بستر آلژینات کلسیم می باشد. شکل مولکولی ایبوپروفن و مشخصات شیمیایی و فیزیکی آن در جدول ۱ آورده شده است.

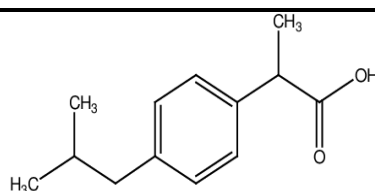
## مواد و روش ها

### مواد آزمایشگاهی

این مطالعه از نوع تجربی- آزمایشگاهی و به صورت ناپیوسته انجام شد. مخمر *S.cerevisiae* از سازمان پژوهشهای علمی صنعتی با کد PTCC:5052 تهیه شد. ایبوپروفن از شرکت زیگما آلد ریچ تهیه شد. سایر مواد شیمیایی از جمله

جدول ۱: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی ایبوپروفن<sup>۱۸، ۱۷</sup>

| فرمول شیمیایی                                  | جرم مولی (g/mol) | نقطه ذوب | نقطه جوش                  | دانسیته (g/cm <sup>3</sup> ) | حلالیت در آب (mg/mL)-20°C | PKa  |
|------------------------------------------------|------------------|----------|---------------------------|------------------------------|---------------------------|------|
| C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> | 206.29           | 75-78 °C | 157 °C (315 °F) at 4 mmHg | 1.03                         | 0.021                     | 4.91 |

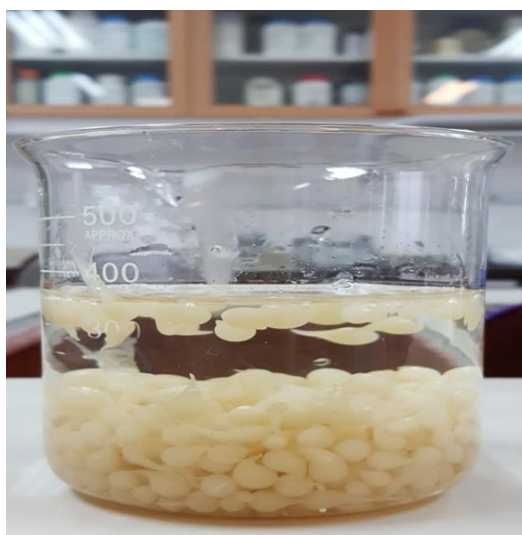


یک ساعت زمان ماند داده شد تا قطره های آلزینات کلسیم سفت شوند سپس با آب مقطر استریل سه بار گویچه ها شستشو داده شدند تا کلسیم آزاد شسته شود. سپس برای ذخیره سازی سلول های تثبیت شده را در داخل محلول بافر سیترات فسفات در pH برابر ۵ تا زمان استفاده نگهداری شد ۱۹، ۲۰.

## آزمایشات حذف و سنجش ایبوپروفن

ابتدا گویچه های حاوی سلول های مخمر با غلظت های مختلف درون ارلن استریل به حجم ۲۵۰ سی سی حاوی ۱۰۰ میلی لیتر محلول از غلظت های مختلف ایبوپروفن ریخته شدند و درون شیکر انکوباتور با سرعت ۱۲۰ دور بر دقیقه و دمای ۲۸ درجه سلسیوس در مدت زمان های مختلف قرار داده شد. پس از طی زمان مجاورت در هر آزمایش، گویچه ها توسط کاغذ صافی جمع آوری شده و حجم های ۱۰ سی سی از محلول آزمایش برداشته و به وسیله فیلتر سرسرنگی با اندازه ۰/۲ میکرون صاف شد. به منظور سنجش میزان حذف ایبوپروفن از طول موج ۲۲۱ نانومتر و دستگاه HPLC مدل (CE4100- CECIL, England)، مجهز به ستون C18 (mm  $\mu\text{m} 5 \times 6/4 \times 200$ ) با دکتور UV-visible با طول موج ۲۲۱ نانومتر و فاز متحرک آب مقطر و استونیتریل با نسبت ۶۰:۴۰ استفاده شد. دبی فاز حامل دستگاه، ۱ mL/min و حجم تزریق نمونه ۲۰  $\mu\text{L}$  بود. نمونه ها برای تزریق به دستگاه

HPLC از فیلتر سرسرنگی ۰/۲ میکرون عبور داده شدند<sup>۲۱</sup>. همزمان از یک نمونه شاهد و فعال از نظر متابولیسمی نیز استفاده شد. تمام دستگاه های مورد استفاده قبل از انجام آزمایشات، مطابق کاتالوگ مربوطه، کالیبره گردیدند. برای اطمینان از تکرار پذیری نتایج، هر آزمایش با سه بار تکرار انجام گرفت. آزمایشات بر حسب فاکتورهای تعریف شده در جدول ۲ انجام شده است و داده های بدست آمده با استفاده از نرم افزار EXCEL و Design Expert با استفاده از روش Behnken-Box مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. شکل ۱ سلول های تثبیت شده مخمر بر روی بستر آلزینات را نشان می دهد.



شکل ۱: سلول های تثبیت شده مخمر بر روی بستر آلزینات

جدول ۲: فاکتور ها و سطوح مربوط به آزمایشات حذف ایبوپروفن

| فاکتورها | اسم متغیر ها                | سطح پایین | متوسط | سطح بالا |
|----------|-----------------------------|-----------|-------|----------|
| A        | زمان (h)                    | ۱         | ۱۵/۵  | ۳۰       |
| B        | غلظت اولیه ایبوپروفن (mg/l) | ۵۰        | ۲۰۰   | ۳۵۰      |
| C        | pH                          | ۴         | ۵/۵   | ۷        |
| D        | غلظت مخمر (w/v)             | ۰/۱       | ۰/۲   | ۰/۳      |

## تعیین سهم جذب و تجزیه بیولوژیکی

به منظور بررسی سهم جذب و تجزیه بیولوژیکی مخمر ابتدا مقدار ۵ گرم از سلول‌های مخمر ساکارومایسس سرویزیه با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس در دستگاه اتوکلاو قرار داده شد. سپس از نمونه غیر فعال شده به مقدار ۰/۲ گرم وزن مرطوب براشته شد و با ۱۰۰ میلی لیتر محلول با غلظت ۵۰ mg/l ایوپروفن در pH ۵/۵ و در زمان ماند ۳۰ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس درون شیکرانکوباتور با سرعت ۱۲۰ دور بر دقیقه مجاور سازی شد. همزمان از یک نمونه شاهد و فعال از نظر متابولیسمی نیز استفاده شد. پس از گذشت زمان ۳۰ ساعت از آغاز مجاور سازی، نمونه‌ها در همان شرایط سانتریفیوژ شدند و محلول رویی آن‌ها جهت تعیین غلظت ایوپروفن با دستگاه HPLC مورد سنجش قرار گرفت.

## تعیین قابلیت استفاده مجدد از مخمر تثبیت شده

به منظور بررسی قابلیت استفاده مجدد از مخمر تثبیت شده آزمایش استفاده مجدد در شرایط بهینه انجام گرفته شد و پس از پایان واکنش در هر بار استفاده از مخمر تثبیت شده، گویچه‌های آلزینات مخمر به وسیله کاغذ صافی جدا سازی شدند و با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. سپس محلول آبی از بشر خارج شد و با محلول جدید ایوپروفن جایگزین شد. راندمان حذف در هر چرخه کاربرد مجدد از مخمر تثبیت شده اندازه‌گیری شد و نتایج مورد بررسی قرار گرفت.

## بررسی سنجش محصولات جانبی توسط GC با اسپکترو فتومتر جرمی (GC-MS)

برای تعیین محصولات جانبی و نهایی حاصل از ایوپروفن در شرایط بهینه، از دستگاه GC-MS استفاده شد. به این صورت که در شرایط بهینه‌ی حذف ایوپروفن نمونه

ای بعد از ۳۰ ساعت برداشته شد. ابتدا نمونه با روش استخراج مایع-مایع (LLE (Liquid Liquid Extraction)) برای تزریق به دستگاه کروماتوگرافی گازی با اسپکترومتر جرمی آماده گردید. به این صورت که ۲ میلی لیتر حلال هگزان به ۵ میلی لیتر نمونه موجود در لوله آزمایش اضافه شد و توسط ورتکس به مدت ۵ دقیقه مخلوط شد. پس از ساکن گذاشتن لوله به مدت ۱۵ دقیقه، ۱۰  $\mu$ L نمونه از فاز حلال برداشته و به دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent Technologies 7890A ساخت کشور آمریکا با دتکتور جرمی مدل C ۵۹۷۵ سنجش گردید.

## سینتیک واکنش

به منظور بررسی سینتیک تجزیه ایوپروفن در حالت مخمر تثبیت شده با غلظت اولیه ۵۰ mg/L، راندمان حذف بعد از ۱۵/۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ ساعت محاسبه گردید. سپس مدل‌های سینتیکی درجه صفر، درجه اول، درجه دوم، (فرم‌های خطی ۱ تا ۳) مورد بررسی قرار گرفته و نتایج به منظور معرفی مناسب‌ترین مدل، مورد مقایسه قرار گرفتند. در این مقایسه  $R^2$  ضریب ملاک قرارداد شده ۲۲.

## یافته‌ها

در این مطالعه تاثیر پارامترهایی مانند غلظت داروی ایوپروفن، غلظت مخمر ساکارومایسس سرویزیه، pH محلول های آبی و زمان ماندهای مختلف درکارایی حذف ایوپروفن مورد بررسی قرار گرفت. طبق جدول ۳ بیشترین میزان حذف ایوپروفن ۵/۹۳ درصد در غلظت ایوپروفن ۵۰ mg/L در pH برابر ۵/۵، غلظت مخمر ۰/۲g/100ml و زمان ۳۰ ساعت به دست آمد.

جدول ۳: حذف ایوپروفن به وسیله مخمر *S. Cerevisiae* تثبیت شده در شرایط مختلف

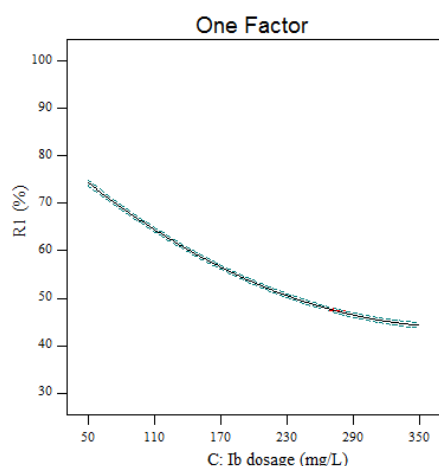
| آزمایش | زمان (h) | pH  | غلظت ایوپروفن (mg) | غلظت مخمر %<br>(g/100ml) | کارایی حذف (%) (با<br>دو بار تکرار) |
|--------|----------|-----|--------------------|--------------------------|-------------------------------------|
| ۱      | ۱۵/۵     | ۵/۵ | ۳۵۰                | ۰/۱                      | ۳۳/۹۶                               |
| ۲      | ۱۵/۵     | ۵/۵ | ۲۰۰                | ۰/۲                      | ۴۸/۸۹                               |
| ۳      | ۱۵/۵     | ۷   | ۳۵۰                | ۰/۲                      | ۴۲/۰۱                               |
| ۴      | ۳۰       | ۵/۵ | ۲۰۰                | ۰/۳                      | ۸۳/۱۶                               |
| ۵      | ۱۵/۵     | ۴   | ۳۵۰                | ۰/۲                      | ۵۰/۴۵                               |
| ۶      | ۱۵/۵     | ۷   | ۵۰                 | ۰/۲                      | ۶۲/۹۹                               |
| ۷      | ۱        | ۷   | ۲۰۰                | ۰/۲                      | ۵۶/۴۴                               |
| ۸      | ۳۰       | ۵/۵ | ۳۵۰                | ۰/۲                      | ۶۴/۵۵                               |
| ۹      | ۱۵/۵     | ۵/۵ | ۲۰۰                | ۰/۲                      | ۴۹/۰۱                               |
| ۱۰     | ۱        | ۴   | ۲۰۰                | ۰/۲                      | ۷۱/۷۵                               |
| ۱۱     | ۳۰       | ۴   | ۲۰۰                | ۰/۲                      | ۸۵/۲۴                               |
| ۱۲     | ۱        | ۵/۵ | ۲۰۰                | ۰/۳                      | ۷۱/۴۲                               |
| ۱۳     | ۱        | ۵/۵ | ۵۰                 | ۰/۲                      | ۷۸/۲۳                               |
| ۱۴     | ۳۰       | ۷   | ۲۰۰                | ۰/۲                      | ۷۱/۴۹                               |
| ۱۵     | ۱۵/۵     | ۴   | ۲۰۰                | ۰/۱                      | ۴۹/۶۹                               |
| ۱۶     | ۱۵/۵     | ۴   | ۲۰۰                | ۰/۳                      | ۷۵/۶۱                               |
| ۱۷     | ۱۵/۵     | ۵/۵ | ۵۰                 | ۰/۱                      | ۵۵/۰۵                               |
| ۱۸     | ۳۰       | ۵/۵ | ۲۰۰                | ۰/۱                      | ۶۳/۷۹                               |
| ۱۹     | ۱        | ۵/۵ | ۳۵۰                | ۰/۲                      | ۵۰/۹۵                               |
| ۲۰     | ۱۵/۵     | ۵/۵ | ۲۰۰                | ۰/۲                      | ۴۸/۶۸                               |
| ۲۱     | ۱۵/۵     | ۴   | ۵۰                 | ۰/۲                      | ۸۵/۰۷                               |
| ۲۲     | ۱۵/۵     | ۵/۵ | ۲۰۰                | ۰/۲                      | ۴۹/۱۳                               |
| ۲۳     | ۳۰       | ۵/۵ | ۵۰                 | ۰/۲                      | ۹۳/۵۱                               |
| ۲۴     | ۱۵/۵     | ۷   | ۲۰۰                | ۰/۳                      | ۵۶/۵۵                               |
| ۲۵     | ۱۵/۵     | ۵/۵ | ۳۵۰                | ۰/۳                      | ۴۸/۸۱                               |
| ۲۶     | ۱۵/۵     | ۵/۵ | ۲۰۰                | ۰/۲                      | ۴۸/۶۲                               |
| ۲۷     | ۱۵/۵     | ۵/۵ | ۵۰                 | ۰/۳                      | ۸۳/۸۹                               |
| ۲۸     | ۱        | ۵/۵ | ۲۰۰                | ۰/۱                      | ۴۶/۶۳                               |
| ۲۹     | ۱۵/۵     | ۵/۵ | ۲۰۰                | ۰/۱                      | ۳۹/۱۳                               |

طبق جدول ۴ مقادیر A، B، C و D نشان دهنده اثر اصلی متغیرهای مستقل بر متغیر وابسته (پاسخ) می باشد. اثر هر کدام از این متغیرها بر راندمان حذف آن و اثرات مداخله ای به صورت حاصلضرب اثر دو فاکتور مستقل و اثرات مربعی هر

فاکتور را نشان می دهد. که چهار فاکتور موثر در حذف ایوپروفن دارای اثر قابل توجه هستند که در این بین بیشترین اثر را غلظت اولیه ایوپروفن با سهم ۳۲/۷۴٪ و (۷۳/۳۰۳۶۴ F=) در حذف آن توسط مخمر ساکارومایسس دارد.

جدول ۴: آنالیز واریانس مدل درجه دو حذف ایوپروفن در حالت تثبیت شده

| Contribution | P value | F value  | Mean squares | DF | Sum of squares | فاکتور - برهمکنش |
|--------------|---------|----------|--------------|----|----------------|------------------|
| ۱۰۰          | <۰/۰۰۰۱ | ۶۶۲۳/۷۳  | ۵۱۳/۱۲       | ۱۴ | ۷۱۸۳/۷۴        | مدل              |
| ۳۲/۷۴        | <۰/۰۰۰۱ | ۳۰۳۶۴/۷۳ | ۲۳۵۲/۲۸      | ۱  | ۲۳۵۲/۲۸        | IB dosage :C     |
| ۱۹/۹۶        | <۰/۰۰۰۱ | ۱۸۵۱۴/۰۲ | ۱۴۳۴/۲۳      | ۱  | ۱۴۳۴/۲۳        | yeast dosage :D  |
| ۹/۲۲         | <۰/۰۰۰۱ | ۸۵۵۹/۱۲  | ۶۶۳/۰۵       | ۱  | ۶۶۳/۰۵         | pH :B            |
| ۸/۶۴         | <۰/۰۰۰۱ | ۸۰۱۵/۳۴  | ۶۲۰/۹۳       | ۱  | ۶۲۰/۹۳         | A : زمان         |
| ۰            | ۰/۰۱۴۱  | ۷/۸۵     | ۰/۶۰۸۴       | ۱  | ۰/۶۰۸۴         | AB               |
| ۰            | ۰/۰۰۹۲  | ۹/۱۱     | ۰/۷۰۵۶       | ۱  | ۰/۷۰۵۶         | AC               |
| ۰/۰۰۱        | <۰/۰۰۰۱ | ۹۴/۸۰    | ۷/۳۴         | ۱  | ۷/۳۴           | AD               |
| ۰/۰۰۶        | <۰/۰۰۰۱ | ۶۰۰/۴۱   | ۴۶/۵۱        | ۱  | ۴۶/۵۱          | BC               |
| ۰/۰۰۲        | <۰/۰۰۰۱ | ۲۳۳/۱۶   | ۱۸/۰۶        | ۱  | ۱۸/۰۶          | BD               |
| ۰/۰۰۶        | <۰/۰۰۰۱ | ۶۳۱/۶۲   | ۴۸/۹۳        | ۱  | ۴۸/۹۳          | CD               |
| ۲۵/۶۷        | <۰/۰۰۰۱ | ۲۳۸۱۰/۷۲ | ۱۸۴۴/۵۶      | ۱  | ۱۸۴۴/۵۶        | A <sup>2</sup>   |
| ۲/۷۵         | <۰/۰۰۰۱ | ۲۵۵۲/۰۳  | ۱۹۷/۷۰       | ۱  | ۱۹۷/۷۰         | B <sup>2</sup>   |
| ۳/۱۴         | <۰/۰۰۰۱ | ۲۹۱۶/۶۸  | ۲۲۵/۹۵       | ۱  | ۲۲۵/۹۵         | C <sup>2</sup>   |
| ۰/۰۰۰۴       | <۰/۰۰۰۱ | ۳۸/۶۶    | ۲/۹۹         | ۱  | ۲/۹۹           | D <sup>2</sup>   |
| -            |         |          | ۰/۰۷۷۵       | ۱۴ | ۱/۰۸           | Residuals        |
| -            | ۰/۲۷۵۲  | ۱/۹۳     | ۰/۰۸۹۸       | ۱۰ | ۰/۸۹۸۴         | Lack of fit      |
| -            | -       | -        | ۰/۰۴۶۵       | ۴  | ۰/۱۸۶۱         | Pure Error       |
| -            | -       | -        | -            | ۲۸ | ۷۱۸۴/۸۲        | cor total        |
| -            | -       | -        | -            | -  | ۰/۹۹۹۸         | R-Squared        |
| -            | -       | -        | -            | -  | ۰/۹۹۹۷         | Adj R-Squared    |
| -            | -       | -        | -            | -  | ۰/۹۹۹۲         | Pred R-Squared   |
| -            | -       | -        | -            | -  | ۲۹۵/ ۹۱۲۲      | Adeq percision   |



شکل ۲: تاثیر غلظت اولیه ایوپروفن بر راندمان حذف ایوپروفن

در این مطالعه از سه غلظت ۳۵۰-۲۰۰-۵۰ mg/L ایوپروفن استفاده شد. شکل ۲ تاثیر غلظت ایوپروفن در حذف ایوپروفن به وسیله مخمر را نشان می‌دهد طبق این نمودار با افزایش غلظت از ۵۰ mg/L به ۳۵۰ mg/l میزان حذف کاهش پیدا می‌کند.

در این مطالعه از سه غلظت ۰/۱-۰/۲-۰/۳ g/100ml استفاده شد. شکل ۳ تاثیر غلظت مخمر بر راندمان حذف ایوپروفن را نشان می‌دهد. طبق این نمودار با افزایش غلظت مخمر از ۰/۱ g/100 ml به ۰/۳ میزان حذف ایوپروفن به وسیله مخمر افزایش می‌یابد.

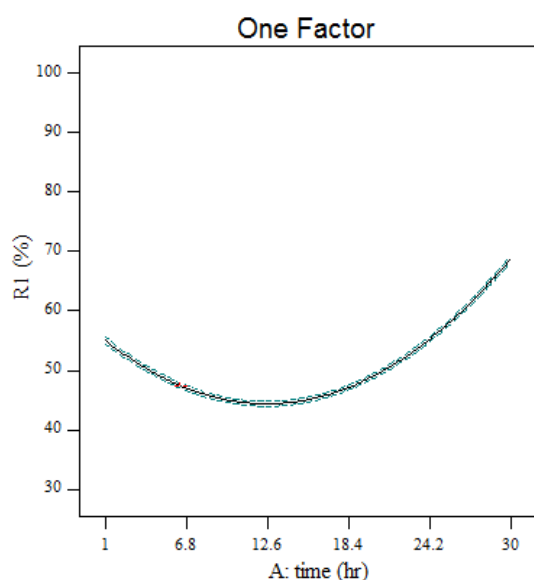
ایوپروفن به وسیله مخمر را نشان می دهد طبق این نمودار با افزایش زمان ابتدا حذف افزایش سپس کاهش و مجدداً رو به افزایش می نهد.

### تاثیر برهمکنش بین پارامترها بر راندمان حذف ایوپروفن

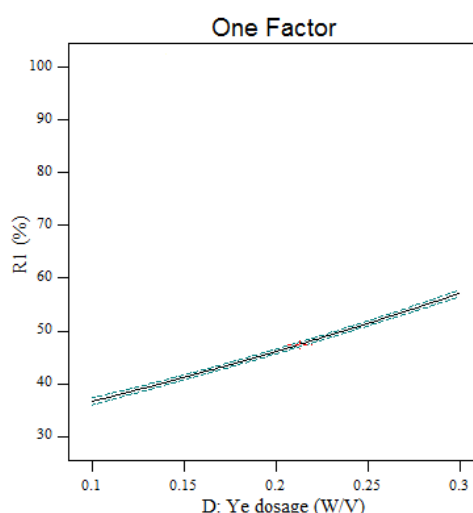
جهت مشخص کردن تاثیر برهمکنش بین پارامترها در حذف ایوپروفن در حالت تثبیت شده تاثیر برهمکنش بین پارامترها دوبه دو بررسی شد.

### بررسی میزان جذب و تجزیه بیولوژیکی ایوپروفن توسط مخمر زنده و مرده

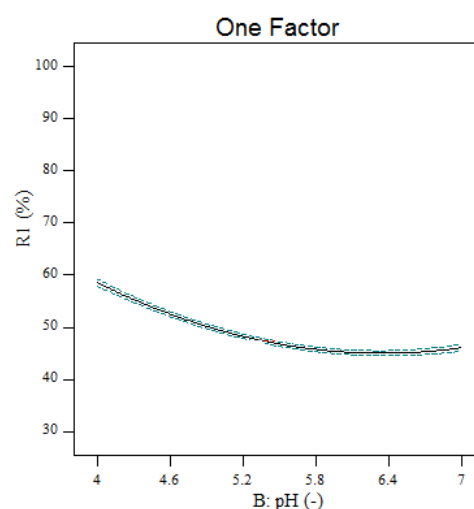
نتایج بررسی راندمان حذف ایوپروفن به وسیله مخمر ساکارومایسس در شرایط بهینه نشان می دهد که بیشترین راندمان حذف ایوپروفن با مخمر فعال و مرده به ترتیب ۹۳/۵ و ۲۶/۵ درصد می باشد از تفاضل این دو مقدار به دست آمده سهم جذب و تجزیه بیولوژیکی حاصل شد که سهم تجزیه برابر با ۶۷ درصد و سهم جذب برابر با ۲۶/۵ درصد می باشد.



شکل ۵: تاثیر زمان بر کارایی حذف ایوپروفن



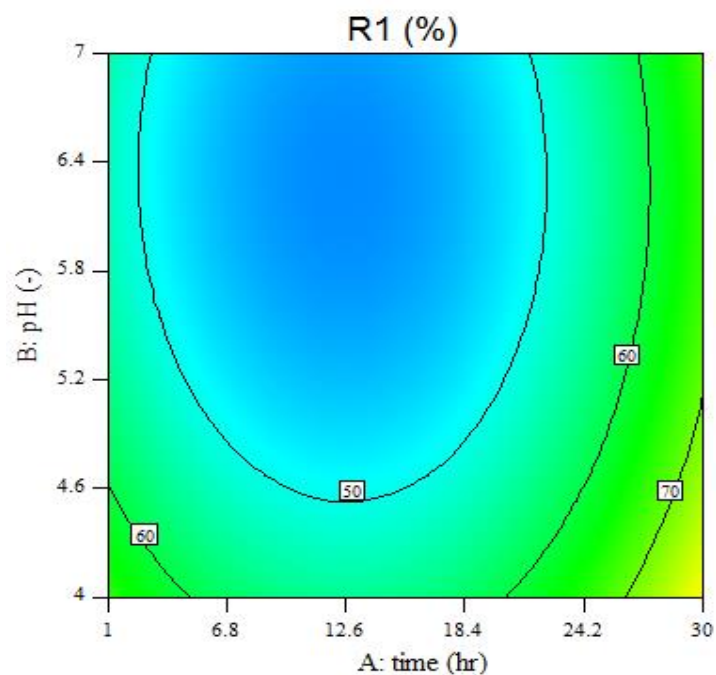
شکل ۳: تاثیر غلظت مخمر بر راندمان حذف ایوپروفن



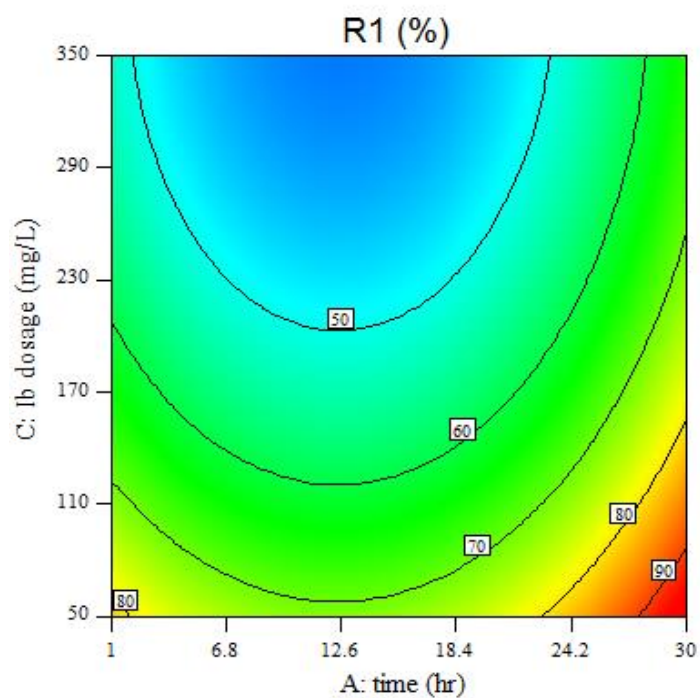
شکل ۴: تاثیر pH بر راندمان حذف ایوپروفن

در این مطالعه از pH های ۴، ۵/۵ و ۷ استفاده شد. شکل ۳ تاثیر pH بر راندمان حذف ایوپروفن به وسیله مخمر را را نشان می دهد طبق این نمودار با کاهش pH از ۷ به ۴ میزان حذف توسط مخمر کاهش پیدا می کند.

در این مطالعه از زمان های ۱، ۱۵/۵ و ۳۰ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. شکل ۵ تاثیر زمان بر کارایی حذف

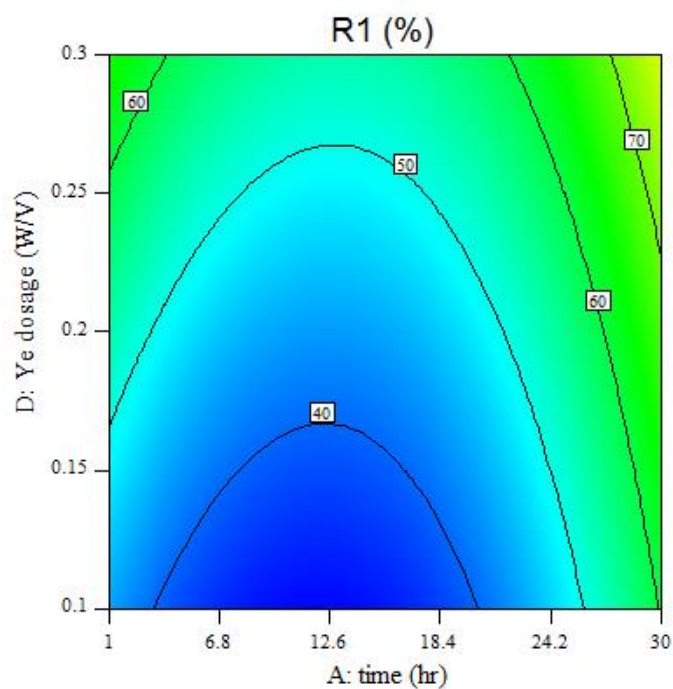


شکل ۶: نمودار کانتور اثر متقابل زمان، pH در شرایط غلظت ایوپروفن ۲۰۰ mg/l و غلظت مخمر ۰/۲ g/100ml

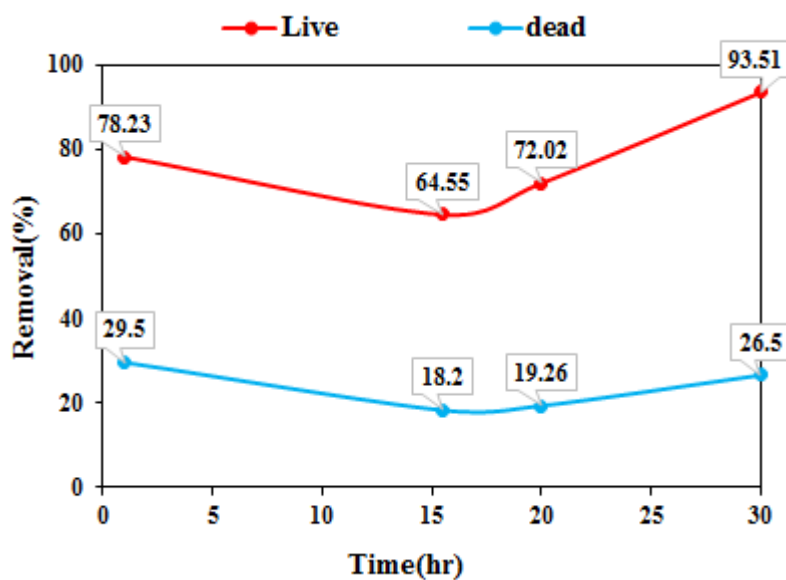


شکل ۷: نمودار کانتور اثر متقابل زمان، غلظت اولیه ایوپروفن ۲۰۰ mg/l در شرایط pH ۵/۵، غلظت مخمر ۰/۲ g/100ml

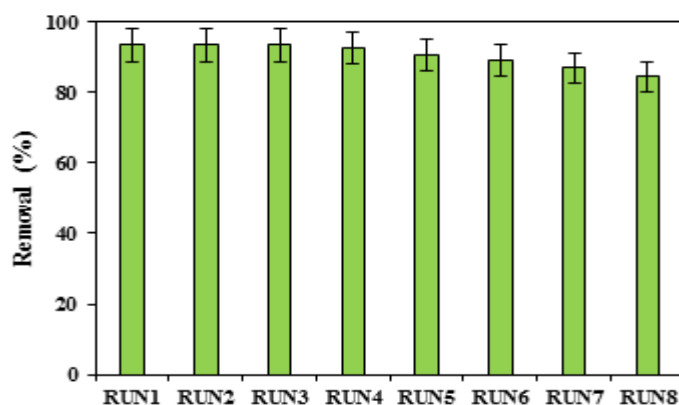
تثبیت مخمر ساکارومایسس سرویزیه بر روی بستر آلژینات به منظور حذف ایبوپروفن از محلول های آبی



شکل ۸: نمودار کانتور اثر متقابل pH، غلظت اولیه ایبوپروفن در شرایط زمان ۱۵/۵ ساعت، غلظت مخمر ۰/۲ g/100ml



شکل ۹: بررسی راندمان حذف ایبوپروفن در شرایط بهینه مخمر زنده و مرده در حالت تثبیت شده ((غلظت ۵۰ mg/L، pH ۵، غلظت مخمر (g/100ml) ۰/۲، زمان ۳۰ ساعت)



**شکل ۱۰:** تغییرات راندمان مخمر تثبیت شده در آلزینات بعد از استفاده مجدد در شرایط بهینه (غلظت ۵۰ mg/L، pH ۵/۵، دوز مخمر ۰/۲ g/100ml، زمان ۳۰ ساعت)

### بررسی قابلیت استفاده مجدد از مخمر تثبیت شده

برای بررسی قابلیت استفاده مجدد از مخمر تثبیت شده بعد از هر بار انجام آزمایش در شرایط بهینه پس از پایان واکنش میزان حذف آلاینده اندازه گیری شد و سپس گویچه های آلزینات مخمر به وسیله کاغذ صافی جداسازی شدند با آب مقطر استریل شستشو داده شد و مجدداً از آن استفاده شد که راندمان حذف پس از ۸ بار استفاده مجدد از مخمر تثبیت شده از ۹۳/۵ به ۸۴/۵ درصد به تدریج کاهش یافت. شکل ۹ تغییرات راندمان حذف ایوپروفن را در شرایط

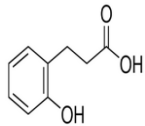
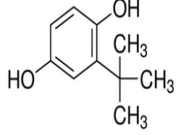
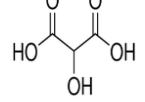
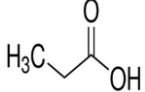
بهینه پس از ۸ بار استفاده مجدد از مخمر تثبیت شده را نشان می دهد.

### محصولات واسطه

مهم ترین فرآورده های جانبی حاصل از تجزیه ایوپروفن شامل ۲- فنیل پروپیونیک اسید، ۲- (۴- هیدروکسی فنیل) پروپانیک اسید، ۲- (۲، ۳- هیدروکسی فنیل) پروپانیک اسید، ایزو بوتیل کتکول، ۲- هیدروکسی مالونیک اسید و پروپیونیک اسید می باشد که در جدول ۵ نشان داده شده است.

**جدول ۵:** مشخصات و نوع محصولات جانبی احتمالی حاصل از حذف ایوپروفن توسط دستگاه GC/ MS در شرایط بهینه (غلظت ۵۰ mg/l، pH ۵/۵، غلظت ۰/۲ g/100 ml مخمر، زمان ۳۰ ساعت)

| شماره پیک | نام ترکیب                           | جرم مولکولی (g/mol) | ساختار مولکولی | فرمول شیمیایی                                 |
|-----------|-------------------------------------|---------------------|----------------|-----------------------------------------------|
| 1         | ۲- فنیل پروپیونیک اسید              | 150                 |                | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> |
| 2         | ۲- (۴- هیدروکسی فنیل) پروپانیک اسید | 166                 |                | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub> |

|   |                                       |        |                                                                                     |                                                |
|---|---------------------------------------|--------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| 3 | ۲- (۳، ۲ هیدروکسی فنیل) پروپانیک اسید | 182    |  | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>  |
| 4 | ایزو بوتیل کتکول                      | 162.22 |  | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub> |
| 5 | ۲- هیدروکسی مالونیک اسید              | 120    |  | C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>5</sub>   |
| 6 | پروپیونیک اسید                        | 74     |  | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>   |

**جدول ۶:** نتایج بررسی سینتیک تجزیه ایبوپروفن در حالت تثبیت شده (غلظت ۵۰ mg/L، pH ۵/۵ دوز مخمر ۰/۲ g/100mL، زمان ۳۰-۱۵/۵ ساعت)

| مدل سینتیکی | رابطه مدل                                                                     | معادله خط             | R <sup>2</sup> | ثابت سرعت واکنش hr <sup>-1</sup> |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|----------------|----------------------------------|
| درجه صفر    | C <sub>t</sub> = C <sub>0</sub> -K <sub>0</sub> t                             | Y = -۰/۸۹۶۱ X +۳۲/۱۶۷ | ۰/۸۵۷          | -۰/۸۹۶۱                          |
| درجه اول    | Ln(C <sub>0</sub> /C <sub>t</sub> )= K <sub>1</sub> t                         | Y = ۰/۱۱۲۹ X -۰/۸۴۵   | ۰/۹۴۵۹         | ۰/۱۱۲                            |
| درجه دوم    | C <sub>t</sub> <sup>-1</sup> = C <sub>0</sub> <sup>-1</sup> +K <sub>2</sub> t | Y = ۰/۰۱۵۹ X -۰/۲۲۳۵  | ۰/۸۲۵۳         | ۰/۰۱۵                            |

## سینتیک واکنش

منحنی های مربوط به مدل های سینتیکی درجه صفر، درجه اول، درجه دوم در حالت تثبیت شده بررسی شد که نتیجه حاصل از آن در جدول ۶ ارائه شده است. سینتیک ایبوپروفن از سینتیک درجه یک پیروی کرده است و ثابت سرعت واکنش در حالت تثبیت شده ۰/۱۱۲ hr<sup>-1</sup> در شرایط بهینه می باشد.

## بحث

جدول ۳ نشان می دهد بیشترین میزان حذف ایبوپروفن ۹۳/۵۱ درصد در شرایط غلظت ایبوپروفن ۵۰ mg/l، pH ۵/۵ و زمان ۳۰ ساعت می باشد. همان طور که در جدول ۴ نشان داده شده، ارتباط آماری معنی داری بین پارامترها به وسیله مقایسه مربع در برابر خطای آزمایش انجام شد. و همچنین فاکتورها داری P values <

0.0001 می باشند که بیانگر ارتباط معنی داری این متغیر ها در سطح اطمینان ۹۵٪ می باشد. مقدار F حاصل در جدول ۵ نشان داد که غلظت اولیه ایبوپروفن تاثیر قابل توجهی در حذف ایبوپروفن دارد. و همچنین مقدار بالای R-square (۰/۹۹۹۸)، نزدیک بودن مقادیر Adj R-squared (۰/۹۹۹۷) و Pred R-squared (۰/۹۹۹۲) و همچنین مقدار بالای F-value مدل (۶۶۲۳/۷۳) در حالت تثبیت شده همگی موید این مطلب است که حذف ایبوپروفن توسط مخمر ساکارومایسس توسط مدل درجه دوم به خوبی تائید می شود. همچنین برهمکنش فاکتورها در شکل ۶ تا ۸ نشان می دهد که برهمکنش های AB، AC، AB، BC، BD و CD داری F-value بالایی بودند. برهمکنش های A<sup>2</sup>، B<sup>2</sup> و C<sup>2</sup> هم داری F-value significant بودند. همانطور که انتظار می رود غلظت اولیه ایبوپروفن (۳۲/۷۴٪) به طور عمده در حذف ایبوپروفن

توسط مخمر موثر بوده و به عنوان یکی از پارامترهای مهم برای تعیین ظرفیت تجزیه ایوپروپون از محلول های آبی می باشد. همانطور که در شکل ۲ نیز مشاهده می شود با افزایش غلظت ایوپروپون از ۵۰ mg/L به ۳۵۰ mg/L، کارایی حذف کاهش یافته است. کاهش بازده حذف با افزایش غلظت ایوپروپون را می توان اینگونه تفسیر نمود کاهش درصد حذف ایوپروپون با افزایش غلظت آن می تواند ناشی از سمیت ایوپروپون برای مخمر در غلظت های بالا و یا غلظت کمتر مخمر برای تجزیه دارو در غلظت های بالا باشد. R.G. Sara tale و همکاران مطالعه ای بر روی تجزیه بیولوژیکی رنگ به وسیله یک نوع قارچ انجام دادند نتایج نشان داد که با افزایش غلظت رنگ از ۵۰ mg/L به ۲۰۰ mg/L میزان راندمان کاهش پیدا کرد<sup>۲۳، ۲۴</sup>. Sharma Amirnia و همکارانش در سال ۲۰۱۵ به مطالعه ای بر روی حذف فلزات سنگین از محیط های آبی توسط مخمر ساکارومایسس سرویزیه بر روی بیوراکتور پیوسته پرداختند نتایج نشان داد با افزایش غلظت فلزات از ۱۰ mg/L به ۱۸۰ mg/L میزان راندمان کاهش پیدا کرد<sup>۲۵</sup>.

ترتیب فاکتورهای در نظر گرفته در تجزیه ایوپروپون بر اساس شدت آن ها به ترتیب زیر است :

برهم کنش متغیر ها > زمان > pH > غلظت مخمر > غلظت ایوپروپون و راندمان حذف ایوپروپون به وسیله مخمر ساکارومایسس را به صورت معادله ۱ بیان کرد:

(۱)

$$+48.87 + 7.19A - 7.43B - 14.00C + 10.93D + 0.0039AB - 0.4200AC - 1.36AC + 3.41BC - 2.13BD - 2.13BD - 3.50CD + 16.86 A^2 + 5.52 B^2 + 5.90 C^2 + 6.795 D^2$$

غلظت مخمر از دیگر پارامتر های مهم در حذف ایوپروپون می باشد همانطور که در شکل ۳ مشاهده می شود با افزایش غلظت مخمر از ۱ g/100 ml به ۰/۳، راندمان حذف افزایش یافته است و مقدار باقی مانده ایوپروپون در

محلول کاهش یافته است. افزایش راندمان با افزایش مخمر را می توان اینگونه بیان کرد که چون حذف ایوپروپون به وسیله مخمر بیولوژیکی می باشد و واکنش های بیولوژیکی وابسته به زمان و مقدار زیست توده (مخمر) می باشند لذا با افزایش زمان تماس و مقدار مخمر حذف بیشتر و بهتر صورت می گیرد. همچنین افزایش غلظت مخمر باعث افزایش سطح تماس می شود. صادقی و همکاران در سال ۲۰۱۵ مطالعه ای با عنوان توانایی مخمر *S. cerevisiae* در حذف بیولوژیکی آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین از محلول های آبی انجام دادند نتایج نشان داد با افزایش غلظت مخمر از ۱ g/100 ml به ۰/۱ راندمان حذف آلاینده افزایش یافت<sup>۲۶</sup>. MyLinhNguyen و همکارانش در سال ۲۰۱۵ پژوهشی به عنوان حذف نیکل از محیط های آبی توسط ساکارومایسس سرویزیه انجام دادند. در این تحقیق پارامتر مقدار جاذب g/l ۱ تا ۵ مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت g/l ۵ مقدار بهینه در این تحقیق بدست آمد<sup>۲۷</sup>. pH محلول از جمله پارامتر های مهم بر راندمان حذف می باشد. همانطور که در نمودار ۳ نشان داده می شود با کاهش pH از ۷ به ۴ کارایی حذف افزایش یافته است. افزایش بازده حذف با کاهش pH را می توان اینگونه تفسیر نمود که pH محلول از پارامترهای مهم تاثیر گذار بر واکنش های شیمیایی و بیولوژیکی محلول های آبی محسوب می شود و در کل فرآیند نقش مهمی دارد. سطح مخمر *S. Cerevisiae* دارای سه گروه کربوکسیل، فسفات و آمین می باشد که دو گروه کربوکسیل و فسفات دارای بار منفی و گروه آمین دارای بار مثبت می باشد. گروه های آمین بطور عمده در پروتئین ها و توده های زیستی یافت می شوند و در جذب زیستی نسبت به دو گروه دیگر تمایل بیشتری را از خود نشان می دهد. در pH های کم، سایت های فعال موجود در مخمر *S. cerevisiae* (گروه های آمین) پروتونه شده و دانسیته بار مثبت موجود در سطح مخمر افزایش می یابد<sup>۲۸، ۲۹</sup>. مواد آلی بر اساس ضریب تفکیک یونی به دو صورت یونی یا غیر

یونی در آب حل می شوند زمانی که pH محلول آبی بالاتر از ضریب تفکیک یونی باشد ( $pH > pK_a$ ) ماده آلی به صورت یونی در آب حل می شود و اگر pH محیط کمتر از ضریب تفکیک یونی آن باشد ( $pH < pK_a$ ) ماده آلی به صورت غیر یونی در آب حل می شود. ایوپروفن دارای ضریب تفکیک یونی ۵/۲ می باشد. این دارو در محیط های اسیدی به صورت غیر یونی در آب حل می شود و در شرایط قلیایی به صورت یونی حل می شود فرم یونی ایوپروفن نسبت به فرم غیر یونی تمایل به واکنش پذیری بالایی با رادیکال های هیدروکسیل دارد.<sup>۲۹</sup> با توجه به این موضوع که مکانیسم عمل مخمر جذب سطحی و تجزیه بیولوژیکی است اگر تنها پدیده جذب سطحی دخالت می داشت می بایست در pH قلیایی جذب بیشتری می داشتیم در صورتی که جذب در pH اسیدی بهتر صورت می گیرد لذا مخمر *S. cerevisiae* در فرآیند حذف به صورت بیولوژیکی عمل می کند<sup>۳۰، ۳۱</sup>. از دیگر دلایل حذف زیستی بیشتر دارو در pH اسیدی می تواند پایداری و رشد بالای مخمر به کار برده شده در pH های اسیدی نسبت به pH های بازی به دلیل ماهیت اسیدوفیلی آن باشد<sup>۳۲</sup>. مطالعه ای در سال ۲۰۱۹ توسط MR Samarghandi و همکاران تحت عنوان بررسی کارایی مخمر ساکارومایسس سرویزیه (مخمر نان) در حذف آنتی بیوتیک آموکسی سیلین و سفتریاکسون از محیط های آبی انجام شد. نتایج نشان داد که این نوع مخمر در pH اسیدی بیشترین میزان حذف را دارد<sup>۳۳</sup>. M.S. Mahmoud در سال ۲۰۱۴ مطالعه ای بر روی حذف چند رنگ راکتیو از محیط های آبی به وسیله ساکارومایسس سرویزیه انجام داد. نتایج نشان داد با کاهش pH راندمان حذف افزایش پیدا کرد<sup>۳۴</sup>. زمان واکنش نیز یکی از پارامترهای مهم در حذف ایوپروفن می باشد. با توجه به شکل ۵، در این مطالعه محدوده ی زمان واکنش بین ۱ تا ۳۰ ساعت در نظر گرفته شد. شکل ۵ اثر مثبت افزایش زمان واکنش بر پاسخ را به خوبی نشان می دهد. با توجه به این

شکل ها، در زمان یک ساعت درصد حذف ۷۸/۲۳ درصد و پس از آن در زمان ۱۵ ساعت به ۶۴/۵۵ درصد کاهش می یابد. پس از زمان ۱۵ ساعت درصد حذف روبه افزایش می نهد. دلیل بالاتر بودن میزان حذف در زمان یک ساعت نسبت به زمان ۱۵ ساعت را می توان این گونه تفسیر نمود که اتصال مخمر با ایوپروفن یک روند سریع و برگشت پذیر می باشد به طوری که اتصال ایوپروفن با مخمر در محیط مایع، فرآیندی سریع همراه با تشکیل یک کمپلکس برگشت پذیر بین ایوپروفن و سطح دیواره سلولی مخمر را ایجاد می کند<sup>۳۵، ۳۶</sup>. پس می تواند اینگونه بیان نمود که ابتدا پدیده جذب سطحی در یک ساعت اولیه واکنش و واجذب مجدد آن پس از زمان یک ساعت رخ می دهد و سپس در زمان ۱۵ ساعت و پس از آن تجزیه زیستی ماده واجذب شده و مقدار باقی مانده دارو در محلول واکنش رخ می دهد. لطف آبادی و همکاران مطالعه ای در سال ۲۰۱۷ تحت عنوان تجزیه بیولوژیکی رنگ به وسیله مخمر ساکارومایسس انجام دادند نتایج نشان داد که در ساعات اولیه حذف رنگ بالا بود و سپس دچار کاهش شد و پس از آن رو به افزایش و تجزیه کامل رنگ در ۱۲ ساعت شد<sup>۳۷</sup>. Jadhav و همکاران مطالعه ای با عنوان رنگ زدایی رنگ متیل رد آزو توسط *S. Cerevisiae* انجام دادند. نتایج نشان داد در ابتدا حذف رنگ بالا بود و سپس دچار کاهش حذف و پس از آن سلول های *S. Cerevisiae* این نوع رنگ را به طور کامل در مدت ۱۶ دقیقه حذف کرد<sup>۳۸</sup>.

## بررسی میزان جذب و تجزیه بیولوژیکی ایوپروفن

در این تحقیق راندمان حذف ایوپروفن توسط سلول های اتوکلاو شده *S. Cerevisiae* مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه از روش اتوکلاو کردن (غیر فعال کردن سلول مخمر) برای بررسی بیشتر بر روی حذف ایوپروفن توسط مخمر استفاده شد و مشخص گردید که مخمر غیر فعال شده اگر چه

## بررسی سینتیک واکنش حذف ایوپروفن از محیط‌های آبی توسط مخمر ساکارومایسس

نتایج بررسی سینتیک تجزیه ایوپروفن نشان داد که ضرایب سینتیکی تجزیه ایوپروفن در شرایط بهینه بر اساس ضریب رگرسیون خطی ( $R^2$ ) با معادله درجه اول مطابقت دارد. معیار انتخاب مناسب ترین مدل، ضریب رگرسیون خطی ( $R^2$ ) در نظر گرفته شده است که طبق جدول ۶ تجزیه ایوپروفن از مدل سینتیکی درجه اول پیروی می کند. در مطالعه I. Rodriguez-Roda و همکاران که به حذف بیولوژیکی ایوپروفن پرداخته شده است، مشخص شد که واکنش تجزیه ایوپروفن از واکنش درجه اول پیروی می کند.<sup>۴۱</sup>

## نتیجه گیری

راندمان حذف ایوپروفن با زمان تماس و مقدار مخمر رابطه مستقیم دارد به طوری که با افزایش زمان تماس و غلظت مخمر راندمان بالا رفته و حذف بیشتری صورت می گیرد. با افزایش غلظت اولیه ایوپروفن توانایی مخمر در حذف، کاهش می یابد. همچنین میزان حذف ایوپروفن توسط مخمر با کاهش pH افزایش یافت. در pH اسیدی بیشترین میزان حذف مشاهده شده است. سینتیک واکنش حذف آلاینده با مدل سینتیکی درجه یک مطابقت دارد. مخمر ساکارومایسس تثبیت شده توانایی ۸ بار استفاده مجدد را دارد. در نهایت می توان نتیجه گرفت که مخمر *S. Cerevisiae* (مخمر نان) توانایی حذف ایوپروفن را با کمترین هزینه با راندمان بالا داراست و نیز با توجه به اینکه این نوع مخمر در صورت استفاده در محیط زیست ماده شیمیایی جانبی اضافه نمی کند لذا از نظر اکوسیستم بسیار مناسب است.

قادر به حذف ایوپروفن می باشد ولی راندمان حذف آن در مقایسه با مخمر زنده کاهش می یابد. شکل ۹ نشان می دهد که بیشترین راندمان حذف ایوپروفن با مخمر فعال و مرده به ترتیب ۹۳/۵ و ۲۶/۵ درصد می باشد از تفاضل این دو مقدار به دست آمده سهم جذب و تجزیه بیولوژیکی حاصل شد که سهم تجزیه برابر با ۶۷ درصد و سهم جذب برابر با ۲۶/۵ درصد می باشد. در مطالعه S. Yang و همکاران در سال ۲۰۱۳ حذف ترکیبات دارویی توسط گونه های قارچی انجام شد. نتایج نشان داد حذف آلاینده ها با سلول های قارچی بر این اساس است که آلاینده های هدف می توانند در سطح قارچ ها یا داخل سلول جذب شوند و بعداً توسط آنزیم های خارج سلولی و درون سلولی تخریب شوند. همچنین جذب بیولوژیکی ترکیبات دارویی آبگریز باعث تجزیه بیولوژیکی آن ها می شود. ضریب Log Kow یک پارامتر کلیدی جهت بررسی سهم جذب و تجزیه بیولوژیکی در ترکیبات دارویی آبگریز می باشد به طوری که اگر ( $\log Kow > 4$ ) باشد حذف ترکیب دارویی تحت تاثیر هردو مکانیسم جذب و تجزیه قرار می گیرد و اگر ( $\log Kow < 3$ ) سهم جذب بیولوژیکی در حذف ترکیب بسیار محدود می باشد. ایوپروفن یک داروی آبگریز می باشد که داری  $\log Kow$  برابر ۳/۹۷ می باشد در نتیجه سهم تجزیه بیولوژیکی آن نسبت به سهم جذب آن بیشتر می باشد<sup>۱۵، ۱۴</sup>. Ahmet ÇABUK و همکاران در سال ۲۰۰۵ مطالعه تحت حذف سرب به وسیله گونه های قارچی انجام شد نتایج نشان داد کاهش جذب زیستی توسط زیست توده های اسپریلوس و رسیکولور پیش تیمار شده با اتوکلاو و حرارت نسبت به زیست توده فعال از نظر متابولیسمی به دلیل فقدان جذب داخل سلولی بود<sup>۳۹</sup>. احرام پوش و همکاران در سال ۱۳۹۶، مطالعه ای با عنوان توانایی مخمر ساکارومیس سرویزیه در حذف بیولوژیکی دیازینون از محلول های آبی انجام دادند. نتایج نشان داد بیشترین راندمان حذف دیازینون با مخمر فعال و مرده به ترتیب ۹۶ و ۲۴ درصد بود<sup>۴۰</sup>.

## سپاسگزاری

تشکر را از حمایت های دانشگاه دارند. همچنین محققین این پژوهش نهایت تقدیر و تشکر خود را از آقای دکتر ناصر عباسی رئیس مرکز تحقیقات گیاهان داروئی و سایر همکاران ایشان که شرایط تکمیل طرح مذکور را فراهم آوردند را به عمل می آورند.

این مقاله بخشی از پایان نامه و طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی ایران در سال ۱۳۹۷ با عنوان ارزیابی کارایی مخمر ساکارومایسس سرویزیه تثبیت شده در آلژینات کلسیم در حذف ایبوپروفن در محلول های آبی و به کد ۳۳۱۹۷-۲۷-۰۱-۹۷ می باشد که نویسندگان نهایت تقدیر و

## References

1. Kaur A, Umar A, Kansal SK. Heterogeneous photocatalytic studies of analgesic and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *APPL CATAL A-GEN* 2016;510: 134-55.
2. NARVAEZ V JF, JIMENEZ C C. Pharmaceutical products in the environment: sources, effects and risks. *Vitae* 2012;19(1): 93-108.
3. Mestre A, Pires J, Nogueira J, Carvalho A. Activated carbons for the adsorption of ibuprofen. *Carbon* 2007;45(10): 1979-88.
4. Heckmann L-H, Callaghan A, Hooper HL, et al. Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: effects on life history traits and population dynamics. *J Toxicol Lett* 2007;172(3): 137-45.
5. Subramanya NT. Biodegradation of bisphenol a and ibuprofen by ammonia oxidizing bacteria: Texas A&M University; 2007.
6. Boynton CS, Dick CF, Mayor GH. NSAIDs: an overview. *J. Clin. Pharmacol.* 1988;28(6): 512-17.
7. Renner R. Drug mixtures prove harmful. *ACS Publications*; 2002.
8. Xia D, Lo IM. Synthesis of magnetically separable Bi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> hybrid nanocomposites with enhanced photocatalytic removal of ibuprofen under visible light irradiation. *J Water Res* 2016;100: 393-404.
9. Ferreira AM, Coutinho JA, Fernandes AM, Freire MG. Complete removal of textile dyes from aqueous media using ionic-liquid-based aqueous two-phase systems. *Sep. J Purif. Technol.* 2014;128: 58-66.
10. Mittal H, Maity A, Ray SS. Synthesis of co-polymer-grafted gum karaya and silica hybrid organic-inorganic hydrogel nanocomposite for the highly effective removal of methylene blue. *Chem Eng J* 2015;279: 166-79.
11. RAHAEI S, Razavi S, EMAM JZ. The ability of *Saccharomyces cerevisiae* strain in aflatoxin reduction in pistachio nuts. 2010.
12. YARKE SN, Ghaemi N, Nouhi A. Optimizing conditions of lead removal by *saccharomyces cerevisiae* in laboratory condition. 2011.
13. Teixeira MC, Duque P, Sá-Correia I. Environmental genomics: mechanistic insights into toxicity of and resistance to the herbicide 2, 4-D. *Trends Biotechnol.* 2007;25(8): 363-70.
14. Yang S, Hai FI, Nghiem LD, et al. Removal of bisphenol A and diclofenac by a novel fungal membrane bioreactor operated under non-sterile conditions. *Int. Biodeterior. Biodegradation* 2013;85: 483-90.
15. Naghdi M, Taheran M, Brar SK, et al. Removal of pharmaceutical compounds in water and wastewater using fungal oxidoreductase enzymes. *Environ Pollut* 2018;234: 190-213.
16. Erşan M. Removal of tetracycline using new biocomposites from aqueous solutions. *Desalination Water Treat.* 2016;57(21): 9982-92.
17. Chang E-E, Wan J-C, Kim H, et al. Adsorption of selected pharmaceutical compounds onto activated carbon in dilute aqueous solutions exemplified by acetaminophen, diclofenac, and sulfamethoxazole. *Sci. World J.* 2015;2015.
18. Hattrem MN, Dille MJ, Seternes T, et al. The relative bioavailability of ibuprofen after administration with a novel soft chewable drug formulation. *CLIN PHARM DRUG DEV* 2018;7(2): 168-76.
19. Xing Z, Zhang Q, Shi X, Lin Y. *Saccharomyces cerevisiae* immobilized in alginate for continuous fermentation. *J Clean Energy Technol* 2016;4.
20. Inal M, Yiğitoğlu M. Production of bioethanol by immobilized *Saccharomyces cerevisiae* onto modified sodium alginate gel. *J CHEM TECHNOL BIOT.* 2011;86(12): 1548-54.
21. Denney R, Vogel AI, Mendham J. Vogel's textbook of quantitative chemical analysis/revised by J Mendham...[et al.]. Harlow, Essex, England: Longman Scientific & Technical; New York: Prentice Hall; 2000.
22. Behnamfard A, Salarirad MM. Equilibrium and kinetic studies on free cyanide adsorption from aqueous solution by activated carbon. *J. Hazard. Mater.* 2009;170(1): 127-33.
23. Saratale R, Saratale G, Chang J-S, Govindwar SP.

- Decolorization and biodegradation of textile dye Navy blue HER by *Trichosporon beigeli* NCIM-3326. *J Hazard Mater* 2009;166(2-3): 1421-28.
24. Kalme S, Parshetti G, Jadhav S, Govindwar SP. Biodegradation of benzidine based dye Direct Blue-6 by *Pseudomonas desmolyticum* NCIM 2112. *Bioresour Technol* 2007;98(7): 1405-10.
  25. Amirnia S, Ray MB, Margaritis A. Heavy metals removal from aqueous solutions using *Saccharomyces cerevisiae* in a novel continuous bioreactor–biosorption system. *Chem. Eng. Trans.* 2015;264: 863-72.
  26. Sadeghi A, Dolatabadi M, Asadzadeh S, JAMALI BF. Ability of the yeast *saccharomyces cerevisiae* for biological removal of ciprofloxacin antibiotic in aqueous solution. 2015.
  27. Nguyen ML, Juang R-S. Modification of crosslinked chitosan beads with histidine and *Saccharomyces cerevisiae* for enhanced Ni (II) biosorption. *J TAIWAN INST CHEM E* 2015;56: 96-102.
  28. Sadeghi A, Dehghan A, Asadzadeh S, Dolatabadi M. Removal of nitrate from aqueous solutions using *Saccharomyces cerevisiae* biosorbent: adsorption isotherms and kinetics. *J North Khorasan Univ Med Sci* 2014;6(2): 441-49.
  29. Nourmoradi H, Moghadam KF, Jafari A, Kamarehie B. Removal of acetaminophen and ibuprofen from aqueous solutions by activated carbon derived from *Quercus Brantii* (Oak) acorn as a low-cost biosorbent. *J. Environ. Chem. Eng.* 2018;6(6): 6807-15.
  30. Plakas KV, Karabelas AJ. Removal of pesticides from water by NF and RO membranes—A review. *Desalination* 2012;287: 255-65.
  31. Sadeghi A, Bazardehi MAK, Raffe S, Zarif B. Biotransformation of carmoisine and reactive black 5 dyes using *saccharomyces cerevisiae*. *Health* 2014;6(10): 859.
  32. Narendranath NV, Power R. Relationship between pH and medium dissolved solids in terms of growth and metabolism of *Lactobacilli* and *Saccharomyces cerevisiae* during ethanol production. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005;71(5): 2239-43.
  33. Samarghandi M, Asgari G, Shokoohi R, et al. Efficiency of *Saccharomyces Cerevisiae* in Ceftriaxone Removal from Aquatic Environments: Kinetic, Isotherm of Absorption and Thermodynamics Study. *J Health* 2019;10(3): 270-86.
  34. Mahmoud M. Decolorization of certain reactive dye from aqueous solution using Baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) strain. *HBRC J* 2014.
  35. Afshar P, Motamedzadegan A, Ahmady M, et al. Review on aflatoxins biodegradation strategies based on fungi. *Clinical Excellence* 2017;7(1): 36-48.36.
  36. Oliveira CAF, Bovo F, Corassin CH, et al. Recent trends in microbiological decontamination of aflatoxins in foodstuffs. *Aflatoxins-recent advances and future prospects* 2013.
  37. Vatandoostarani S, Lotfabad TB, Heidarinassab A, Yaghmaei S. Degradation of azo dye methyl red by *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763. *Int Biodeterior Biodegrad* 2017;125: 62-72.
  38. Jadhav J, Parshetti G, Kalme S, Govindwar SP. Decolourization of azo dye methyl red by *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 463. *Chemosphere* 2007;68(2): 394-400.
  39. Çabuk A, İlhan S, Filik C, ÇALIŞKAN F. Pb<sup>2+</sup> Biosorption by Pretreated Fungal Biomass. *TURK J BIOL* 2005;29(1): 23-28.
  40. Ehrampoush MH, Sadeghi A, Ghaneian MT, Bonyadi Z. Optimization of diazinon biodegradation from aqueous solutions by *Saccharomyces cerevisiae* using response surface methodology. *AMB Express* 2017;7(1): 68.
  41. Collado N, Buttiglieri G, Ferrando-Climent L, et al. Removal of ibuprofen and its transformation products: experimental and simulation studies. *Sci Total Environ* 2012;433: 296-301.

# Immobilization of *Saccharomyces Cerevisiae* on Alginate Substrate to Biodegradation of Ibuprofen from Aqueous Solutions

Kobra Tahmasebi<sup>1</sup>, Roshanak Rezaei Kalantary<sup>2,3\*</sup>, Ali Esrafil<sup>2,3</sup>, Sajad Mazloomi<sup>4</sup>

1. M.Sc student of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2. Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3. Research Center for Environmental Health Technology, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4. Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

\*E-mail: rezaei.r@iums.ac.ir

Received: 1 Feb 2020 ; Accepted: 16 Aug 2020

## ABSTRACT

**Background:** Ibuprofen is one of the most widely used non-steroidal anti-inflammatory drugs that enter the water resources through manufacturing plants and disposal of hospital effluents and even domestic wastewater. The aim of this study was to removal of ibuprofen using biodegradation process by *Saccharomyces Cerevisiae* yeast fixed on alginate substrate from aqueous solutions.

**Method:** This research was an experimental-laboratory study. The effect of parameters including yeast concentration (0.1-0.3 g/100ml), Initial concentration of ibuprofen (50-350 mg/l), contact time (1-30 hours), initial pH (4-7) on the biodegradation of ibuprofen with stabilized yeast on alginate substrate was investigated. Experiments were designed and optimized using response surface methodology in Design Expert 7 software.

**Results:** The findings of this study showed that the maximum removal of ibuprofen by fixed yeast on alginate at pH = 5.5, yeast concentration 0.2 (g /100ml), time 30 hours, and initial concentration of ibuprofen=50 mg/L was 93.5%.

**Conclusion:** Based on the results of this study, it can be concluded that the fixed *Saccharomyces cerevisiae* is capable to biodegradation of ibuprofen at low cost and high efficiency and this cost-effective method can be used for the treatment of pharmaceutical wastewater.

**Keyword:** Alginate; Aqueous solutions; Biodegradation; Ibuprofen, Yeast *Saccharomyces cerevisiae*