

ثبتیت مخمر ساکارومایسین سرویزیه بر روی بستر آلژینات به منظور حذف ایبوپروفن از محلول های آبی

کبری طهماسبی^۱، روشنگ رضایی کلانتری^{*۲}، علی اسرافیلی^۳، سجاد مظلومی^۴

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

^۲ گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

^۳ مرکز تحقیقات تکنولوژی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

^۴ گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۹۸/۱۱/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۵/۲۶

چکیده

زمینه و هدف: ایبوپروفن 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 ایبوپروفن در فرآیند تجزیه زیستی به وسیله مخمر ساکارومایسین سرویزیه ثبتیت شده بر روی بستر آلژینات از محلول های آبی می باشد.

مواد و روش ها: این پژوهش، یک مطالعه تجربی - آزمایشگاهی می باشد. در این مطالعه تاثیر پارامترهای غلاظت مخمر (g/100ml) ۰/۱-۰/۳، غلاظت اولیه ایبوپروفن (mg/l) ۵۰-۳۵۰، زمان تماس ۱-۳۰ ساعت و pH اولیه محلول (۷-۴) بر فرآیند تجزیه زیستی ایبوپروفن با مخمر ساکارومایسین ثبتیت شده بر روی بستر آلژینات 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 حداقل حذف ایبوپروفن توسط مخمر ثبتیت شده بر روی آلژینات ۵/۹۳ درصد در pH=۵/۵، غلاظت مخمر (g/100ml) ۰/۲، زمان ۳۰ ساعت و غلاظت اولیه mg/L ۵۰ ایبوپروفن است.

نتیجه گیری: بر مبنای نتایج این مطالعه می توان بیان نمود که مخمر ساکارومایسین سرویزیه ثبت شده توانایی تجزیه بیولوژیکی ایبوپروفن 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: ایبوپروفن، تجزیه بیولوژیکی، مخمر ساکارومایسین سرویزیه، آلژینات، محلول های آبی

*نویسنده مسئول: گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
ایمیل: rezaei.r@iums.ac.ir - شماره تماس: ۰۹۱۲۳۲۲۴۵۸۶

مقدمه

کننده فعالیت های غدد درون ریز درانسان و حیوان می باشد^۶. ایبوپروفن در غلاظت 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^{۵,۷}. تاکنون روش های مختلفی جهت حذف این آلزیندها به کار برده شده است از قبیل؛ جذب، انعقاد، ترسیب و ... معایب این فرآیندها، این است که نه تنها باعث حذف کامل آلزینده نشده اند، باعث انتقال فازی آن ها 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 ای تولید محصولات واسطه می باشد^{۸-۱۰}. یکی از روش های حذف باقی مانده های دارویی از محیط های آبی، استفاده از مخمرها می باشد. مخمر ساکارومایسین سرویزیه یک قارچ میکروسکوپی است. که تحت نام مخمر نانوایی شناخته شده است یک مخمر ارزان قیمت و کم هزینه می باشد^{۱۱}. یکی از مزایای Cerevisiae S انتخابی بودن آن در انتقال فعال و همچنین رقابتی بودن آن در بحث جذب بیولوژیکی می باشد^{۱۲,۱۳}. حذف آلزیندها با سلول های قارچی بر این اساس است که آلزیندهای 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^{۱۴,۱۵}. استفاده از سلول های تثییت 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، تثییت سلول ها باعث افزایش پایداری و سطح تماس سلول ها، محفوظ نگه داشتن آن ها از تغییرات مستقیم عوامل فیزیکو شیمیایی محیط می شود و امکان حذف را افزایش می دهد^{۱۵}. Mehtap Ers در سال ۲۰۱۶ مطالعه ای در مورد حذف آنتی بیوتیک تراسایکلین از محیط های آبی توسط

با پیشرفت صنایع و افزایش جمعیت مواد شیمیایی جدیدی کشف و مورد استفاده قرار گرفته اند که مقادیر زیادی از آن ها روزانه از طریق جریان های فاضلاب وارد محیط زیست و منابع آب های طبیعی می شوند. امروزه از بین آلزینده های متنوع آبی در سرتاسر دنیا داروها به عنوان آلزینده های بالقوه منابع آبی شناخته می شوند و با قرار گرفتن در دسته آلزینده های نوظهور (Emerging Contaminants) باعث ایجاد نگرانی های شده اند^۱. دفع داروهای مراقبت پزشکی انسان و حیوان منع 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 باشد^۲. ایبوپروفن به عنوان یک ترکیب آلی پیچیده و ماده آلی سخت تجزیه پذیر استفاده می شود. ایبوپروفن با نام علمی (۲-۲-(متیل پروپیل) فنیل) پروپونیک اسید از جمله داروهای مسکن غیره التهابی (Nonsteroidal anti-inflammatory drugs) NSAID) یکی از داروهای ضروری فهرست شده به وسیله سازمان جهانی بهداشت است^{۳,۴}. یکی از پر مصرف ترین و پر فروش ترین داروها در جهان ایبوپروفن می باشد. ایبوپروفن، سومین داروی پر مصرف و پر فروش در جهان می باشد. ایبوپروفن، سومین داروی پر مصرف 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^۵. ایبوپروفن در آب های سطحی در نقاط مختلف جهان در غلاظت های نانوگرم تا میکروگرم در لیتر اندازه گیری شده است. نیمه عمر این ماده در محیط ۳۲ روز تخمین زده است^۶. ایبوپروفن به سرعت به شکل کونزگریت های مختلف مثل هیدروکسی IPB، کربوکسی IPB و کربوکسی-هیدراتوپیک اسید دفع شده که نه تنها سمیت حاد بالایی دارد، بلکه همچنین مشکوک به مختلط

آلزینات سدیم، کلرید کلسیم، اسید کلریدریک و سدیم هیدروکسید از شرکت مرک آلمان خریداری شد و تمام محلول سازی‌ها با آب مقطور انجام گرفت. برای انجام آزمایشات از ظروف شیشه‌ای با حجم مشخص (۲۵۰ میلی لیتری حاوی ۱۰۰ میلی لیتر مخلوط واکنش) استفاده شد.

ثبت سازی سلول‌های مخمر بر روی بستر

آلزینات

برای ثبت سلول‌های مخمر در آلزینات ابتدا محلول ۴ درصد (۴ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطور) از آلزینات سدیم تهیه شد و در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شد تا استریل گردد و به آن مخمر با مقدار ۱/۰۲٪ و ۰/۳٪ درصد (گرم در ۱۰۰ میلی لیتر) اضافه و هم زده شد تا یکنواخت شود. در پسر جداگانه‌ای به حجم ۵۰۰ میلی لیتر، مقدار ۱۵٪ لیتر محلول کلرید کلسیم (CaCl_2) درصد (گرم در ۱۰۰ میلی لیتر) آماده شد. سپس به کمک سرنگ ۱۰۰ سی سی استریل، همزمان که پسر روی همزن قرار دارد، مخلوط آلزینات و مخمر به صورت قطره چکانی اضافه گردید. قطره‌های حاوی آلزینات سدیم، پس از قرار گرفتن درون پسر حاوی کلرید کلسیم، به گویچه‌های آلزینات کلسیم تبدیل شدند.

ساکارومایسین سرویزیه در کنار پلی پروپیلن و پلی استایرن انجام داد نتایج نشان داد که مخمر ساکارومایسین در حذف آنتی بیوتیک تتراسایکلین موثر و صرفه اقتصادی بالای دارد.^{۱۶} Satinder Kaur Brar و همکاران در سال ۲۰۱۸ مطالعه‌ای با عنوان حذف ترکیبات دارویی با استفاده از قارچ‌ها از آب و فاضلاب پرداختند نتایج نشان دهنده راندمان بالای ۹۰ درصد حذف ایبوپروفن بود.^{۱۵} هدف از این مطالعه تعیین کارایی مخمر ساکارومایسین سرویزیه ثبت شده بر روی بستر آلزینات کلسیم در شرایط آزمایشگاهی در حذف داروی ایبوپروفن از محلول‌های آبی است. براساس مطالعات ما این گزارش اولین مطالعه در ارتباط با حذف ایبوپروفن توسط مخمر ساکارومایسین سرویزیه ثبت شده بر روی بستر آلزینات کلسیم می‌باشد. شکل مولکولی ایبوپروفن و مشخصات شیمیایی و فیزیکی آن در جدول ۱ اورده شده است.

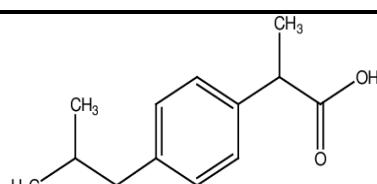
مواد و روش‌ها

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 آلدريچ تهیه شد. سایر مواد شیمیایی از جمله

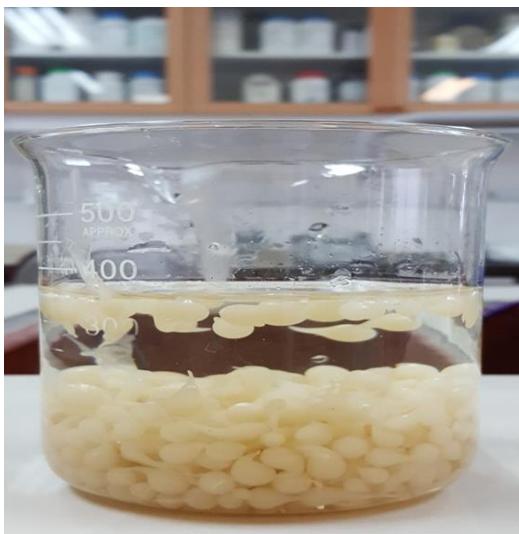
جدول ۱: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی ایبوپروفن^{۱۷, ۱۸}

فرمول شیمیایی	جرم مولی (g/mol)	نقطه ذوب	نقطه جوش	(دانسیته) g/cm^3	حالیت در آب (mg/mL)-20°C	PK_a
$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_2$	206.29	75-78 °C	157 °C (315 °F) at 4 mmHg	1.03	0.021	4.91



ثبت مخمر ساکارومایسیس سرویزیه بر روی بستر آژینات به منظور حذف ایبوپروفن از محلول های آبی

HPLC از فیلتر سررنگی $0/2$ میکرون عبور داده شدند.^{۲۱} هم‌زمان از یک نمونه شاهد و فعال از نظر متابولیسمی نیز استفاده شد. تمام دستگاه‌های 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 داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار Behnken Design Expert و EXCEL با استفاده از روش Box-Box مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. شکل ۱ سلول‌های ثبت شده مخمر بر روی بستر آژینات را نشان می‌دهد.



شکل ۱: سلول‌های ثبت شده مخمر بر روی بستر آژینات

یک ساعت زمان ماند داده شد تا قطره‌های آژینات کلسیم سفت شوند سپس با آب مقطر استریل سه بار گویچه‌ها شستشو داده شدند تا کلسیم آزاد شسته شود. سپس برای ذخیره سازی سلول‌های ثبت شده را در داخل محلول بافر سیترات فسفات در pH ۵ برابر 5 تا زمان استفاده نگهداری شد.^{۲۰, ۱۹}

آزمایشات حذف و سنجش ایبوپروفن

ابتدا گویچه‌های حاوی سلول‌های مخمر با غلظت‌های مختلف درون ارلن استریل به حجم 250 سی سی حاوی 100 میلی لیتر محلول از غلظت‌های مختلف ایبوپروفن ریخته شدند و درون شیکر انکوباتور با سرعت 120 دور بر دقیقه و دمای 28 درجه سلسیوس در مدت زمان‌های مختلف قرار داده شد. پس از طی زمان مجاورت در هر آزمایش، گویچه‌ها توسط کاغذ صافی جمع آوری شده و حجم‌های 10 سی سی از محلول آزمایش برداشته و به وسیله فیلتر سررنگی با اندازه $0/2$ میکرون صاف شد. به منظور سنجش میزان حذف ایبوپروفن از طول موج 221 نانومتر و دستگاه HPLC مدل mm C18 (CE4100- CECIL, England) با دتکتور UV-visible $(4/6 \times 5 \mu\text{m} \times 200 \text{ mm})$ با طول موج 221 نانومتر و فاز متحرک آب مقطر و استونیتریل با نسبت $60:40$ استفاده شد. دبی فاز حامل دستگاه، 1 mL/min و حجم تزریق نمونه $20 \mu\text{L}$ بود. نمونه‌ها برای تزریق به دستگاه

جدول ۲: فاکتورها و سطوح مربوط به آزمایشات حذف ایبوپروفن

فاکتورها	اسم متغیرها	سطح پایین	متوسط	سطح بالا
A	زمان (h)	۱	$15/5$	30
B	غلظت اولیه ایبوپروفن (mg/l)	50	200	350
C	pH	4	$5/5$	7
D	غلظت مخمر (w/v)	$0/1$	$0/2$	$0/3$

ای بعد از ۳۰ ساعت برداشته شد. ابتدا نمونه با روش استخراج مایع-مایع (LLE (Liquid Liuid Extraction) برای تزریق به دستگاه کروماتوگرافی گازی با اسپکترومتر جرمی آماده گردید. به این صورت که ۲ میلی لیتر حلال هگران به ۵ میلی لیتر نمونه موجود در لوله آزمایش اضافه شد و توسط ورتكس به مدت ۵ دقیقه محلوت شد. پس از ساکن گذاشتن لوله به مدت ۱۵ دقیقه، $10\text{ }\mu\text{L}$ نمونه از فاز حلال برداشته و به دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 7890A Technologies ساخت کشور آمریکا با دستکتور جرمی مدل C ۵۹۷۵ مورد سنجش گردید.

سینتیک واکنش

به منظور بررسی سینتیک تجزیه ایبوپروفن در حالت مخمر ثبیت شده با غلظت اولیه 50 mg/L ، راندمان حذف بعد از $15/5$ ، 20 ، 25 و 30 ساعت محاسبه گردید. سپس مدل‌های سینتیکی درجه صفر، درجه اول، درجه دوم، (فرم‌های خطی 1 تا 3) مورد بررسی قرار گرفته و نتایج به منظور معروف مناسب‌ترین مدل، مورد مقایسه قرار گرفتند. در این مقایسه R^2 ضریب ملاک قرارداده شد $.22$.

یافته‌ها

در این مطالعه تاثیر پارامترهای مانند غلظت داروی ایبوپروفن، غلظت مخمر ساکارومایسین سرویزیه، pH محلول های آبی و زمان ماندهای مختلف در کارایی حذف ایبوپروفن مورد بررسی قرار گرفت. طبق جدول 3 بیشترین میزان حذف ایبوپروفن $93/5$ درصد در غلظت ایبوپروفن 50 mg/L در pH $5/5$ ، غلظت مخمر $100\text{ ml}/2\text{ g}$ و زمان 30 ساعت به دست آمد.

تعیین سهم جذب و تجزیه بیولوژیکی

به منظور بررسی سهم جذب و تجزیه بیولوژیکی مخمر ابتدا مقدار 5 گرم از سلول‌های مخمر ساکارومایسین سرویزیه با 100 mL لیتر آب مقطر محلوت و به مدت 15 دقیقه در دمای 121 درجه سلسیوس در دستگاه اتوکلاو قرار داده شد. سپس از نمونه غیر فعال شده به مقدار $0/2$ گرم وزن مرطوب برآشته شد و با 100 میلی لیتر محلول با غلظت 50 mg/l ایبوپروفن در $pH 5/5$ و در زمان ماند 30 ساعت در دمای 28 درجه سلسیوس درون شیکرانکوباتور با سرعت 120 دور بر دقیقه مجاور سازی شد. همزمان از یک نمونه شاهد و فعال از نظرمتabolیسمی نیز استفاده شد. پس از گذشت زمان 30 ساعت از آغاز مجاور سازی، نمونه‌ها در همان شرایط سانتریفیوژ شدن و محلول رویی آن‌ها جهت تعیین غلظت ایبوپروفن با دستگاه HPLC مورد سنجش قرار گرفت.

تعیین قابلیت استفاده مجدد از مخمر ثبیت شده

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

بررسی سنجش محصولات جانبی توسط GC با اسپکترو فتو متر جرمی (GC-MS)

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

تثییت مخمر ساکارومایسیس سرویزیه بر روی بستر آلزینات به منظور حذف ایپوپروفن از محلول های آبی

جدول ۳: حذف ایپوپروفن به وسیله مخمر *S. Cerevisiae* تثییت شده در شرایط مختلف

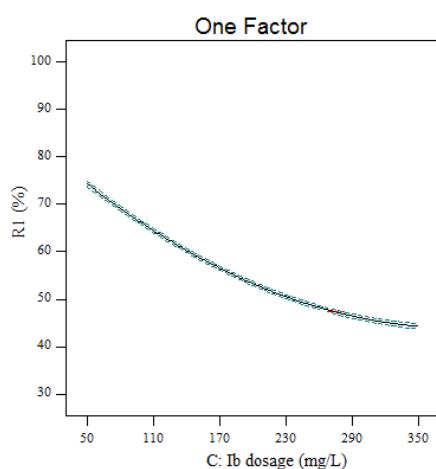
آزمایش	زمان (h)	pH	غلظت ایپوپروفن (mg)	غلظت مخمر % (g/100ml)	کارایی حذف (%) (با دو بار تکرار)
۱	۱۵/۵	۵/۵	۳۵۰	۰/۱	۳۳/۹۶
۲	۱۵/۵	۵/۵	۲۰۰	۰/۲	۴۸/۸۹
۳	۱۵/۵	۷	۳۵۰	۰/۲	۴۲/۰۱
۴	۳۰	۵/۵	۲۰۰	۰/۳	۸۳/۱۶
۵	۱۵/۵	۴	۳۵۰	۰/۲	۵۰/۴۵
۶	۱۵/۵	۷	۵۰	۰/۲	۶۲/۹۹
۷	۱	۷	۲۰۰	۰/۲	۵۶/۴۴
۸	۳۰	۵/۵	۳۵۰	۰/۲	۶۴/۵۵
۹	۱۵/۵	۵/۵	۲۰۰	۰/۲	۴۹/۰۱
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

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

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 مرتبعی هر

جدول ۴: آنالیز واریانس مدل درجه دو حذف ایبوپروفن در حالت ثبیت شده

Contribution	P value	F value	Mean squares	DF	Sum of squares	فاکتور- برهمکنش
1/۰۰	<0/0001	۶۶۲۳/۷۳	۵۱۲/۱۲	۱۴	۷۱۸۳/۷۴	مدل
۳۲/۷۴	<0/0001	۳۰۳۶۴/۷۳	۲۳۵۲/۲۸	۱	۲۳۵۲/۲۸	IB dosage : C
۱۹/۹۶	<0/0001	۱۸۵۱۴/۰۲	۱۴۳۴/۲۳	۱	۱۴۳۴/۲۳	yeast dosage : D
۹/۲۲	<0/0001	۸۰۵۹/۱۲	۶۶۳/۰۵	۱	۶۶۳/۰۵	pH : B
۸/۶۴	<0/0001	۸۰۱۵/۳۴	۶۲۰/۹۳	۱	۶۲۰/۹۳	: زمان A
.	0/0141	۷/۸۵	۰/۶۰۸۴	۱	۰/۶۰۸۴	AB
.	0/009۲	۹/۱۱	۰/۷۰۵۶	۱	۰/۷۰۵۶	AC
۰/۰۰۱	<0/0001	۹۴/۸۰	۷/۳۴	۱	۷/۳۴	AD
۰/۰۰۶	<0/0001	۶۰۰/۴۱	۴۶/۵۱	۱	۴۶/۵۱	BC
۰/۰۰۲	<0/0001	۲۳۳۳/۱۶	۱۸/۰۶	۱	۱۸/۰۶	BD
۰/۰۰۶	<0/0001	۶۳۱/۶۲	۴۸/۹۳	۱	۴۸/۹۳	CD
۲۰/۶۷	<0/0001	۲۳۸۱۰/۷۲	۱۸۴۴/۵۶	۱	۱۸۴۴/۵۶	A ²
۲/۷۵	<0/0001	۲۰۵۲/۰۳	۱۹۷/۷۰	۱	۱۹۷/۷۰	B ²
۳/۱۴	<0/0001	۲۹۱۶/۶۸	۲۲۵/۹۵	۱	۲۲۵/۹۵	C ²
۰/۰۰۰۴	<0/0001	۳۸/۶۶	۲/۹۹	۱	۲/۹۹	D ²
-			۰/۰۷۷۵	۱۴	۱/۰۸	Residuals
-	0/۲۷۵۲	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 ایبوپروفن بر راندمان حذف ایبوپروفن

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

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

ثبت مخمر ساکارومایسیس سرویزیه بر روی بستر آلزینات به منظور حذف ایبوپروفن از محلول های آبی

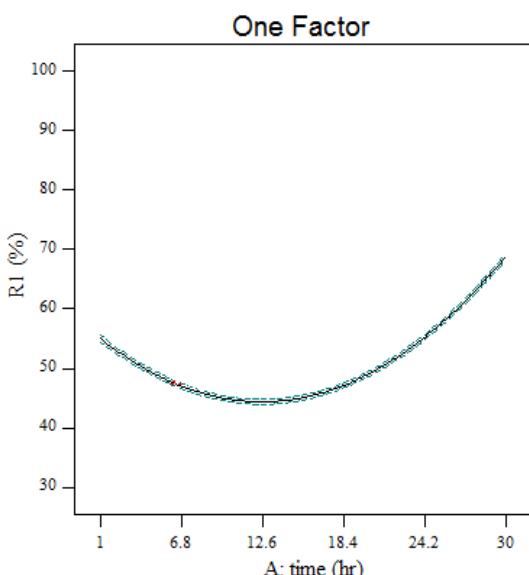
ایبوپروفن به وسیله مخمر را نشان می دهد طبق این نمودار با افزایش زمان ابتدا حذف افزایش سپس کاهش و مجدداً رو به افزایش می نهد.

تأثیر برهمکنش بین پارامترها بر راندمان حذف ایبوپروفن

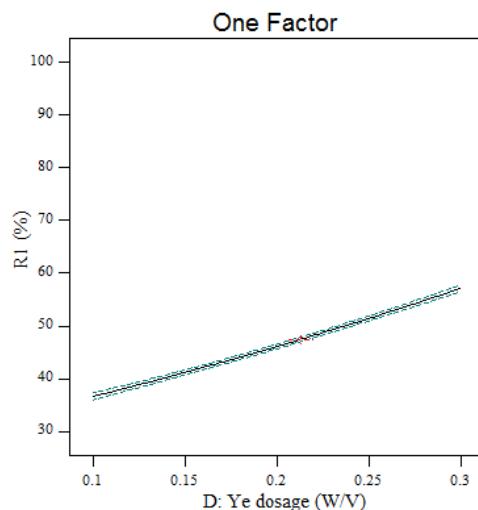
جهت مشخص کردن تأثیر برهمکنش بین پارامترها در حذف ایبوپروفن در حالت ثبت شده تأثیر برهمکنش بین پارامترها دو به دو بررسی شد.

بررسی میزان جذب و تجزیه بیولوژیکی ایبوپروفن توسط مخمر زنده و مرده

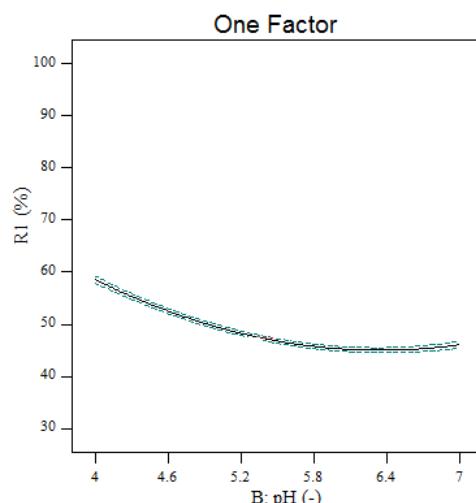
نتایج بررسی راندمان حذف ایبوپروفن به وسیله مخمر ساکارومایسیس در شرایط بهینه نشان می دهد که بیشترین راندمان حذف ایبوپروفن با مخمر فعال و مرده به ترتیب $\frac{93}{5}$ و $\frac{26}{5}$ درصد می باشد از تفاصل این دو مقدار به دست آمده سهم جذب و تجزیه بیولوژیکی حاصل شد که سهم تجزیه برابر با $\frac{67}{5}$ درصد و سهم جذب برابر با $\frac{26}{5}$ درصد می باشد.



شکل ۵: تأثیر زمان بر کارایی حذف ایبوپروفن

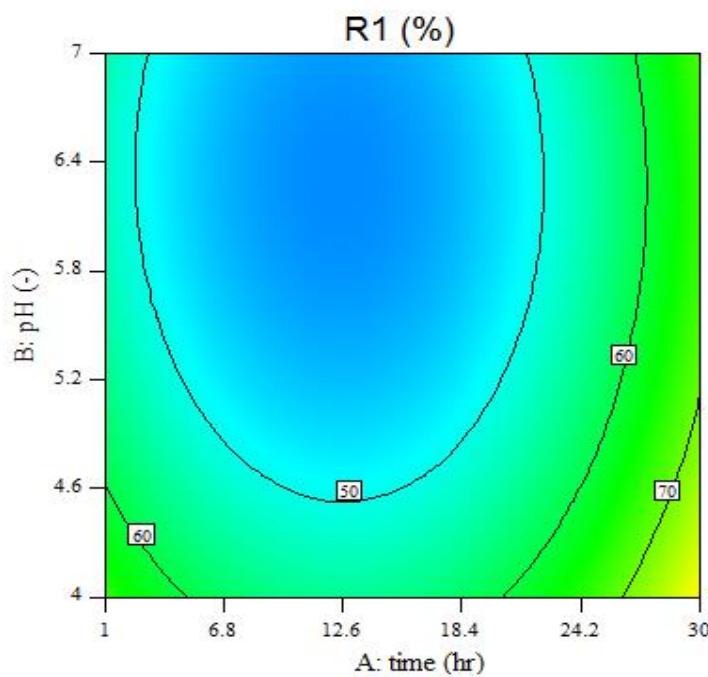


شکل ۳: تأثیر غلاظت مخمر بر راندمان حذف ایبوپروفن

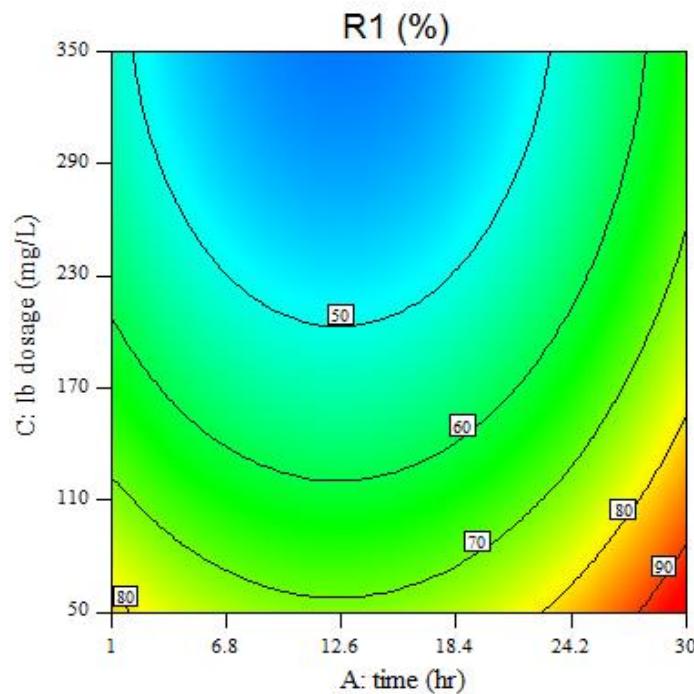


شکل ۴: تأثیر pH بر راندمان حذف ایبوپروفن

در این مطالعه از pH های ۴، ۵/۵ و ۷ استفاده شد. شکل ۳ تأثیر pH بر راندمان حذف ایبوپروفن به وسیله مخمر را نشان می دهد طبق این نمودار با کاهش pH از ۴ به ۷ 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 تأثیر زمان بر کارایی حذف

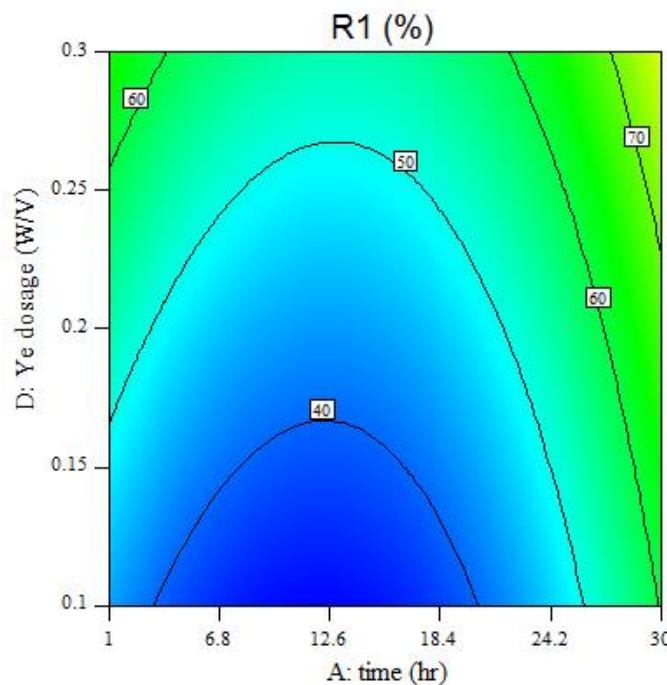


شکل ۶: نمودار کانتور اثربخشی زمان، pH در شرایط غلظت ایبوپروفن ۲۰۰ mg/l و غلظت مخمر ۰/۲ g/100ml.

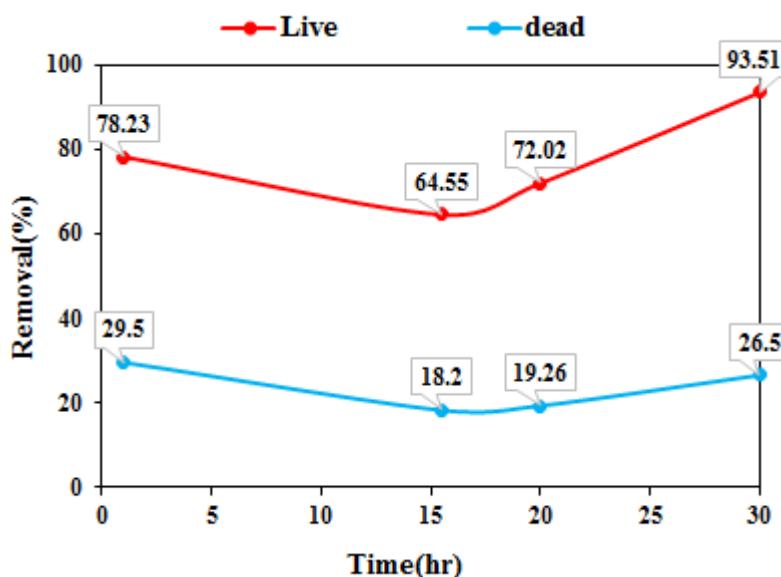


شکل ۷: نمودار کانتور اثربخشی زمان، غلظت اولیه ایبوپروفن ۲۰۰ mg/l در شرایط pH ۵/۵ در شرایط غلظت مخمر ۰/۲ g/100ml.

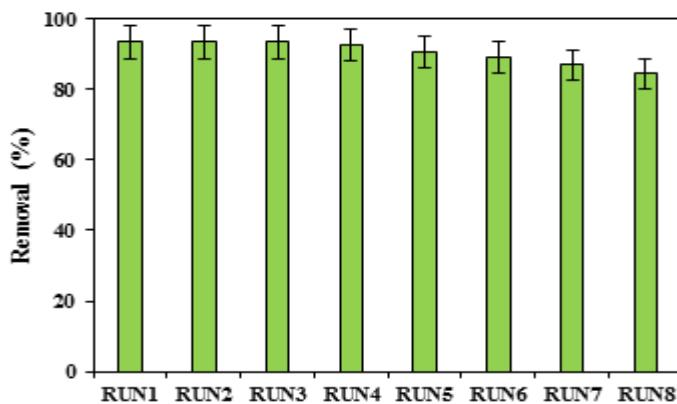
تثیت مخمر ساکارومایسیس سرویزیه بر روی بستر آلزینات به منظور حذف ایبوپروفن از محلول های آبی



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 تثیت شده ((غلظت L₅₀ mg/L, pH ۵/۰، غلظت مخمر (g/100ml) ۰/۲، زمان ۳۰ ساعت)



شکل ۱۰: تغییرات راندمان مخمر ثبیت شده در آلتینات بعد از استفاده مجدد در شرایط بهینه(غلظت 50 mg/L , $pH=5/5$, دوز مخمر $0.2\text{ g}/100\text{ ml}$, زمان 30 ساعت)

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

بررسی قابلیت استفاده مجدد از مخمر ثبیت شده

برای بررسی قابلیت استفاده مجدد از مخمر ثبیت شده بعد از هر بار انجام آزمایش در شرایط بهینه پس از پایان واکنش میزان حذف آلتینات اندازه گیری شد و سپس گویچه های آلتینات مخمر به وسیله کاغذ صافی جداسازی شدند با آب مقطر استریل شستشو داده شد و مجددا از آن استفاده شد که راندمان حذف پس از ۸ بار استفاده مجدد از مخمر ثبیت شده از $93/5$ به $84/5$ درصد به تدریج کاهش یافت. شکل ۹ تغییرات راندمان حذف ایبوپروفن را در شرایط

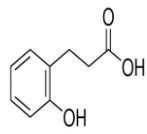
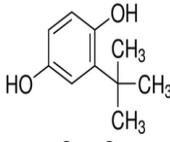
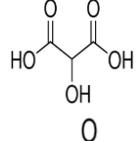
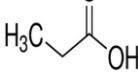
محصولات واسطه

مهم ترین فرآورده های جانبی حاصل از تجزیه ایبوپروفن شامل 2 -فنیل پروپیونیک اسید، 2 - (4 -هیدروکسی فنیل) پروپانیک اسید، 2 - (2 ، 3 ، 4 -هیدروکسی فنیل) پروپانیک اسید، ایزو بوتیل کنکول، 2 -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 ایبوپروفن توسط دستگاه GC/MS در شرایط بهینه (غلظت 1 mg/l , $pH=5/5$) غلظت $0.2\text{ g}/100\text{ ml}$ مخمر ، زمان 30 ساعت

شماره پیک	نام ترکیب	جرم مولکولی (g/mol)	ساختار مولکولی	فرمول شیمیابی
1	2 -فنیل پروپیونیک اسید	150		$C_9H_{10}O_2$
2	2 - (4 -هیدروکسی فنیل) پروپانیک اسید	166		$C_9H_{10}O_3$

ثبت مخمر ساکارومایسیس سرویزیه بر روی بستر آلزینات به منظور حذف ایبوپروفن از محلول های آبی

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

جدول ۶: نتایج بررسی سیستیک تجزیه ایبوپروفن در حالت ثبت شده (غلاظت ۵۰ mg/L، pH ۵/۰، دوز مخمر ۱۰۰ mL/g، زمان ۳۰-۱۵/۵ ساعت)

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

۰.۰۰۰۱ می باشد که بیانگر ارتباط معنی داری این متغیر ها در سطح اطمینان ۹۵٪ می باشد. مقدار F حاصل در جدول ۵ نشان داد که غلاظت 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)، F-value (۰/۹۹۹۲) Pred R-squared (۰/۹۹۹۲) و همچنین مقدار بالای مدل (۶۶۲۳/۷۳) در حالت ثبت شده همگی موید این مطلب است که حذف ایبوپروفن توسط مخمر ساکارومایسیس توسط مدل درجه دوم به خوبی تائید می شود. همچنین برهمکنش فاکتورها در شکل ۶ تا ۸ نشان می دهد که برهمکنش های significant AB، AC، AB، AC دارای F-value کمتری بودند و بودند. برهمکنش های BC و CD دارای F-value بالای بودند و significant هم بودند. A² و B² هم داری F-value بالایی بودند. همانطور که انتظار می رود غلاظت اولیه ایبوپروفن (۳۲/۷۴٪) به طور عمده در حذف ایبوپروفن

منحنی های مربوط به مدل های سیستیکی درجه صفر، درجه اول، درجه دوم در حالت ثبت شده بررسی شد که نتیجه حاصل از آن در جدول ۶ ارائه شده است. سیستیک ایبوپروفن از سیستیک درجه یک پیروی کرده است و ثابت سرعت واکنش در حالت ثبت شده ۰/۱۱۲ hr⁻¹ در شرایط بهینه می باشد.

بحث

جدول ۳ نشان می دهد بیشترین میزان حذف ایبوپروفن ۹۳/۵۱ درصد در شرایط غلاظت ایبوپروفن ۵۰ mg/L مخمر ۱۰۰ mL/g، pH ۵/۰، 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 P values انجام شد. و همچنین فاکتورها داری <

محلول کاهش یافته است. افزایش راندمان با افزایش مخمر را می‌توان اینگونه بیان کرد که چون حذف ایبوپروفن به وسیله مخمر بیولوژیکی می‌باشد و واکنش‌های بیولوژیکی وابسته به زمان و مقدار زیست توده (مخمر) می‌باشند لذا با افزایش زمان تماس و مقدار مخمر حذف بیشتر و بهتر صورت می‌گیرد. همچنین افزایش غلظت مخمر باعث افزایش سطح تماس می‌شود. صادقی و همکاران در سال ۲۰۱۵ مطالعه‌ای با عنوان توانایی مخمر S. cerevisiae در حذف بیولوژیکی آنتی‌بیوتیک سپروفلوكساسین از محلول‌های آبی انجام دادند نتایج نشان داد با افزایش غلظت مخمر از 100 mg/g به 1 mg/g بر راندمان ۰/۱ به ۰/۰۱ حذف آلینده افزایش یافت.^{۲۶} MyLinhNguyen و همکارانش در سال ۲۰۱۵ پژوهشی به عنوان حذف نیکل از محیط‌های آبی توسط ساکارومایسین سرویزیه انجام دادند. در این تحقیق پارامتر مقدار جاذب 1 g/L تا 5 g/L مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت 1 g/L مقدار بهینه در این تحقیق بدست آمد.^{۲۷} pH محلول از جمله پارامترهای مهم بر راندمان حذف می‌باشد. همانطور که در نمودار ۳ نشان داده می‌شود با کاهش pH از ۷ به ۴ کارایی حذف افزایش یافته است. افزایش بازده حذف با کاهش pH را می‌توان اینگونه تفسیر نمود که pH محلول از پارامترهای مهم تاثیر گذار بر واکنش‌های شیمیایی و بیولوژیکی محلول‌های آبی محسوب می‌شود و در کل فرآیند نقش مهمی دارد. سطح مخمر S. Cerevisiae دارای سه گروه کربوکسیل، فسفانات و آمین می‌باشد که دو گروه کربوکسیل و فسفانات دارای بار منفی و گروه آمین دارای بار مثبت می‌باشد. گروه‌های آمین بطور عمدۀ در پروتئین‌ها و توده‌های زیستی یافت می‌شوند و در جذب زیستی نسبت به دو گروه دیگر تمایل بیشتری را از خود نشان می‌دهد. در pH‌های کم، سایت‌های فعال موجود در مخمر S. cerevisiae (گروه‌های آمین) پروتونه شده و دانسیته بارمثبت موجود در سطح مخمر افزایش می‌یابد.^{۲۸,۲۶} مواد آلی بر اساس ضریب تفکیک یونی به دو صورت یونی یا غیر

توسط مخمر موثر بوده و به عنوان یکی از پارامترهای مهم برای تعیین ظرفیت تجزیه ایبوپروفن از محلول‌های آبی می‌باشد. همانطور مه در شکل ۲ نیز مشاهده می‌شود با افزایش غلظت ایبوپروفن از 50 mg/L به 350 mg/L کارایی حذف کاهش یافته است. کاهش بازده حذف با افزایش غلظت ایبوپروفن را می‌توان اینگونه تفسیر نمود کاهش درصد حذف ایبوپروفن با افزایش غلظت آن می‌تواند ناشی از سمیت مخمر برای مخمر در غلظت‌های بالا و یا غلظت کمتر R.G. Sara tale و همکاران مطالعه‌ای بر روی تجزیه بیولوژیکی رنگ به وسیله یک نوع قارچ انجام دادند نتایج نشان داد که با افزایش غلظت رنگ از 50 mg/L به 200 mg/L میزان راندمان کاهش پیدا کرد.^{۲۴, ۲۳} Sharma Amirnia و همکارانش در سال ۲۰۱۵ به مطالعه‌ای بر روی حذف فلزات سنگین از محیط‌های آبی توسط مخمر ساکارومایسین سرویزیه بر روی بیوراکتور پیوسته پرداختند نتایج نشان داد با افزایش غلظت فلزات از 10 mg/L به 180 mg/L میزان راندمان کاهش پیدا کرد.^{۲۵}

ترتیب فاکتورهای در نظر گرفته در تجزیه ایبوپروفن بر اساس شدت آن‌ها به ترتیب زیر است:
برهم کنسنتراسیون pH > زمان > غلظت مخمر
غلظت ایبوپروفن و راندمان حذف ایبوپروفن به وسیله مخمر ساکارومایسین را به صورت معادله ۱ بیان کرد:

$$(1) \quad \begin{aligned} & +48.87 + 7.19A - 7.43B - 14.00C \\ & + 10.93D + 0.0039AB - 0.4200AC - 1.36BC + 3.41BC \\ & - 2.13BD - 2.13BD + 3.50CD + 16.86 A^2 + 5.52 B^2 + 5.90 \\ & C^2 + 6.795 D^2 \end{aligned}$$

غلظت مخمر از دیگر پارامترهای مهم در حذف ایبوپروفن می‌باشد همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود با افزایش غلظت مخمر از 100 mg/g به $0/۰۳$ ، راندمان حذف افزایش یافته است و مقدار باقی مانده ایبوپروفن در

شکل‌ها، در زمان یک ساعت درصد حذف ۷۸/۲۳ درصد و پس از آن در زمان ۱۵ ساعت به ۶۴/۵۵ درصد کاهش می‌یابد. پس از زمان ۱۵ ساعت درصد حذف روبه افزایش می‌نهاد. دلیل بالاتر بودن میزان حذف در زمان یک ساعت نسبت به زمان ۱۵ ساعت را می‌توان این گونه تفسیر نمود که اتصال مخمر با ایبوپروفن یک روند سریع و برگشت پذیر می‌باشد به طوری که اتصال ایبوپروفن با مخمر در محیط مایع، فرآیندی سریع همراه با تشکیل یک کمپلکس برگشت پذیر بین ایبوپروفن و سطح دیواره سلولی مخمر را ایجاد می‌کند.^{۳۶,۳۵} پس می‌تواند اینگونه بیان نمود که ابتدا پدیده جذب سطحی در یک ساعت اولیه واکنش و اجذب مجدد آن پس از زمان یک ساعت رخ می‌دهد و سپس در زمان ۱۵ ساعت و پس از آن تجزیه زیستی ماده واجذب شده و مقدار باقیمانده دارو در محلول واکنش رخ می‌دهد. لطف آبادی و همکاران مطالعه ای در سال ۲۰۱۷ تحت عنوان تجزیه بیولوژیکی رنگ به وسیله مخمر ساکارومایسیس 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.^{۳۷} JadHAV و همکاران مطالعه ای با عنوان رنگ زدایی نشان داد در ابتدا حذف رنگ بالا بود و سپس دچار کاهش حذف و پس از آن سلول‌های *S. Cerevisiae* این نوع رنگ را به طور کامل در مدت ۱۶ دقیقه حذف کرد.^{۳۸}

بررسی میزان جذب و تجزیه بیولوژیکی ایبوپروفن

در این تحقیق راندمان حذف ایبوپروفن توسط سلول‌های 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 ایبوپروفن توسط مخمر استفاده شد و مشخص گردید که مخمر غیر فعال شده اگر چه

یونی در آب حل می‌شوند زمانی که pH محلول آبی بالاتر از ضریب تفكیک یونی باشد ($pH > pKa$) ماده آلی به صورت یونی در آب حل می‌شود و اگر pH محیط کمتر از ضریب تفكیک یونی آن باشد ($pH < pKa$) ماده آلی به صورت غیر یونی در آب حل می‌شود. این دارو در محیط‌های اسیدی به صورت غیر یونی در آب حل می‌شود و در شرایط قلیایی به صورت یونی حل می‌شود فرم یونی ایبوپروفن نسبت به فرم غیر یونی تمایل به واکنش پذیری بالایی با رادیکال‌های هیدروکسیل دارد.^{۳۹} با توجه به این موضوع که مکانیسم عمل مخمر جذب سطحی و تجزیه بیولوژیکی است اگر تنها پدیده جذب سطحی دخالت می‌داشت می‌باشد در pH قلیایی جذب بیشتری می‌داشتم در صورتی که جذب در pH اسیدی بهتر صورت می‌گیرد لذا مخمر *S. cerevisiae* در فرآیند حذف به صورت بیولوژیکی عمل می‌کند.^{۳۰,۳۱} از دیگر دلایل حذف زیستی بیشتر دارو در pH اسیدی می‌تواند پایداری و رشد pH بالای مخمر به کار برده شده در pH های اسیدی نسبت به های بازی به دلیل ماهیت اسیدوفیلی آن باشد.^{۳۲} مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۹ توسط Samarghandi MR و همکاران تحت عنوان بررسی کارایی مخمر ساکارومایسیس سرویزیه (مخمر نان) در حذف آنتی بیوتیک آموکسی سیلین و سفتریاکسون از محیط‌های آبی انجام شد. نتایج نشان داد که این نوع مخمر در pH اسیدی بیشترین میزان حذف را دارد.^{۳۳} Mahmoud در سال ۲۰۱۴ مطالعه ای بر روی حذف چند رنگ راکیو از محیط‌های آبی به وسیله ساکارومایسیس سرویزیه انجام داد. نتایج نشان داد با کاهش pH راندمان حذف افزایش پیدا کرد.^{۳۴} زمان واکنش نیز یکی از پارامترهای مهم در حذف ایبوپروفن می‌باشد. با توجه به شکل ۵، در این مطالعه محدوده زمان واکنش بین ۱ تا ۳۰ ساعت در نظر گرفته شد. شکل ۵ اثر مثبت افزایش زمان واکنش بر پاسخ را به خوبی نشان می‌دهد. با توجه به این

بررسی سیتیک واکنش حذف ایبوپروفن از محیط‌های آبی توسط مخمر ساکارومایسین

نتایج بررسی سیتیک تجزیه ایبوپروفن نشان داد که ضرایب سیتیکی تجزیه ایبوپروفن 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 ایبوپروفن از مدل سیتیکی درجه اول پیروی می‌کند. در مطالعه I. Rodriguez-Roda و همکاران که به حذف بیولوژیکی ایبوپروفن پرداخته شده است، مشخص شد که واکنش تجزیه ایبوپروفن از واکنش درجه اول پیروی می‌کند.^{۴۱}

نتیجه‌گیری

راندمان حذف ایبوپروفن با زمان تماس و مقدار مخمر رابطه مستقیم دارد به طوری که با افزایش زمان تماس و غلطت مخمر راندمان بالا رفته و حذف بیشتری صورت می‌گیرد. با افزایش غلطت اولیه ایبوپروفن توانایی مخمر در حذف، کاهش می‌یابد. همچنین میزان حذف ایبوپروفن توسط مخمر با کاهش pH افزایش یافت. در pH اسیدی بیشترین میزان حذف مشاهده شده است. سیتیک واکنش حذف آلینده با مدل سیتیکی درجه یک مطابقت دارد. مخمر ساکارومایسین تثبیت شده توانایی ۸ بار استفاده مجدد را دارد. در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که مخمر S. Cerevisiae (مخمر نان) توانایی حذف ایبوپروفن 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 جانی اضافه نمی‌کند لذا از نظر اکوسیستم بسیار مناسب است.

قادر به حذف ایبوپروفن می‌باشد ولی راندمان حذف آن در مقایسه با مخمر زنده کاهش می‌یابد. شکل ۹ نشان می‌دهد که بیشترین راندمان حذف ایبوپروفن با مخمر فعال و مرده به ترتیب $۹۳/۵$ و $۲۷/۵$ درصد می‌باشد 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 می‌باشد. در مطالعه S. Yang و همکاران در سال ۲۰۱۳ حذف ترکیبات دارویی توسط گونه‌های قارچی انجام شد. نتایج نشان داد حذف آلینده‌ها با سلول‌های قارچی بر این اساس است که آلینده‌های هدف می‌توانند در سطح قارچ‌ها یا داخل سلول جذب شوند و بعداً توسط آنزیمهای خارج سلولی و درون سلولی تخریب شوند. همچنین جذب بیولوژیکی ترکیبات دارویی آبگریز باعث تجزیه بیولوژیکی آن‌ها می‌شود. ضریب Log Kow یک پارامتر کلیدی جهت بررسی سهم جذب و تجزیه بیولوژیکی در ترکیبات دارویی آبگریز می‌باشد به طوری که اگر ($\log Kow > 4$) باشد حذف ترکیب دارویی تحت تاثیر هردو مکانیسم جذب و تجزیه قرار می‌گیرد و اگر ($\log Kow < 3$) سهم جذب بیولوژیکی در حذف ترکیب بسیار محدود می‌باشد. ایبوپروفن یک داروی آبگریز می‌باشد که دارای $\log Kow = 3/97$ می‌باشد در نتیجه سهم تجزیه بیولوژیکی آن نسبت به سهم جذب آن بیشتر می‌باشد.^{۱۵,۱۴} Ahmet ÇABUK و همکاران در سال ۲۰۰۵ مطالعه تحت حذف سرب به وسیله گونه‌های قارچی انجام شد نتایج نشان داد کاهش جذب زیستی توسط زیست توده‌های اسپرژیلوس و رسیکولور پیش تیمار شده با اتوکلاو و حرارت نسبت به زیست توده فعال از نظر متابولیسمی به دلیل فقدان جذب داخل سلولی بود.^{۳۹} احرام پوش و همکاران در سال ۱۳۹۶، مطالعه‌ای با عنوان توانایی مخمر ساکارومایسین سرویزیه در حذف بیولوژیکی دیازینون از محلول‌های آبی انجام دادند. نتایج نشان داد بیشترین راندمان حذف دیازینون با مخمر فعال و مرده به ترتیب ۹۶ و ۲۴ درصد بود.^{۴۰}

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.

سیاستگذاری

این مقاله بخشی از پایان نامه و طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی ایران در سال ۱۳۹۷ با عنوان ارزیابی کارایی مخمر ساکارومایسین سرویزیه تثیت شده در آلزینات کلسیم در حذف ایبوپروفن در محلول های آبی و به کد ۹۷-۰۱-۲۷-۳۳۱۹۷ می باشد که نویسندهای 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 Bi₂O₃/Fe₃O₄ 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 beigelii NCIM-3326. *J Hazard Mater* 2009;166(2-3): 1421-28.
24. Kalme S, Pashetti 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, Heidarinab A, Yaghmaei S. Degradation of azo dye methyl red by *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763. *Int Biodeterior Biodegrad* 2017;125: 62-72.
 38. Jadhav J, Pashetti 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. Pb²⁺ 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 Tahmasebi¹, Roshanak Rezaei Kalantary^{2,3*}, Ali Esrafilii^{2,3}, Sajad Mazloomi⁴

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*