

ارزیابی باکتری‌های جدا شده از پساب‌های صنعتی در حذف آلاینده سرب

رشیده نیری^۱، ناصر قائمی^۲، اشرف‌السادات نوحی^۳

^۱ کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی تهران واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

^۲ استادیار بیوشیمی، دانشکده علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

^۳ استاد میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: سرب فلزی است که بیشترین اثر منفی را بر نوزاد و جنین در حال رشد دارد، همچنین این فلز در تمام افراد، آثار بیوشیمیایی منفی از جمله اثرات مخرب بر روی کلیه‌ها، دستگاه گوارش، روده، مفاصل و سیستم تناسلی داشته و موجب وارد آمدن آسیب حاد یا مزمن به سیستم عصبی می‌گردد. این پژوهش با هدف غربال‌سازی بیوجاذب‌های باکتریایی با توانایی بالا برای جذب سرب از میان میکروارگانیزم‌های دیگر صورت گرفت.

روش بررسی: در پژوهش حاضر، ابتدا با استفاده از محیط کشت حاوی غلظت معینی از نیترات سرب (II)، جدایه‌های باکتریایی مقاوم از ۳ نمونه پساب جمع‌آوری شده در ۲ شهر قم و قزوین، به دست آمد. سپس حداقل غلظت مهارکننده رشد جدایه‌های مذکور به کمک روش رقت‌سازی در آگار تعیین گردید. جهت شناسایی جدایه‌های قادر به جذب فلز سرب، از روش Pümpel و همکارانش (سال ۱۹۹۵) استفاده شد. در مرحله بعد ظرفیت بیوجذب سرب هر کدام از جدایه‌های با قابلیت جذب فلز، به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی بررسی گردید. در نهایت پس از انتخاب و شناسایی ۲ جدایه مؤثر در حذف آلاینده سرب، بهینه‌سازی شرایط جذب در طی چند مرحله انجام شد.

یافته‌ها: از میان ۲۹ جدایه باکتریایی به دست آمده، ۱۵ جدایه مقاوم به سرب با $MIC \geq 7 \text{ mM}$ برای بررسی جذب سرب انتخاب شدند که به برگزیده شدن جدایه‌های Q-III و P-II به ترتیب با میزان جذبی برابر با $162/8 \text{ mg g}^{-1} \text{ dw}$ و $125/6 \text{ mg g}^{-1} \text{ dw}$ ، تحت شرایط آزمایشگاهی معینی منتج گردید. از سوی دیگر، بالاترین میزان جذب سرب توسط جدایه Q-III در شرایط بهینه‌ای مدت زمان ۲ ساعت، $\text{pH}=5$ و میزان زیست توده مرطوب $0/5 \text{ g}$ و برای جدایه P-II در مدت زمان ۲ ساعت، $\text{pH}=5/5$ و میزان زیست توده مرطوب $0/4 \text{ g}$ مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد جدایه‌های باکتریایی Pseudomonas sp. P-II و Bacillus sp. Q-III، به‌عنوان بیوجاذب‌های مناسب در جهت حذف آلاینده سرب مطرح می‌باشند.

کلید واژه‌ها: جذب زیستی؛ فلزات سنگین؛ سرب؛ بیوجاذب؛ مسمومیت سربی؛ مسمومیت فلزات سنگین.

نویسنده مسئول مکاتبات: دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی تهران واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی: r.nayyeri61@Yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۹۱۵۹۱۲۲۰

تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۲/۲۳

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۰/۲۴

مقدمه

غیرقابل تجزیه بیولوژیکی، فلزات سنگین هستند که از سمی‌ترین آلاینده‌ها در محیط زیست به شمار می‌روند (۲، ۱). در این میان فلز سرب از نظر انتشار، گسترده‌ترین عنصر سنگین و سمی در محیط زیست است که به‌ویژه از زمان مصرف آن در بنزین، از پراکنش وسیعی در سطح جهان برخوردار است. به‌علاوه، مقادیر زیادی

توسعه تکنولوژی و رشد روزافزون فعالیت‌های صنعتی از یک‌سو و رعایت نکردن الزامات زیست محیطی از سوی دیگر، سبب شده است؛ تا طی چند دهه اخیر مقادیر هنگفتی از آلاینده‌ها وارد محیط زیست شوند. یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های پایدار و

روش بررسی

غربال سازی باکتری‌های مقاوم به سرب: در این مطالعه، نمونه‌ها از مراکز صنعتی و کارخانه‌هایی واقع در ۲ شهر قم و قزوین که بخش عمده پساب آنها حاوی سرب بود، جمع‌آوری شد. سپس از نمونه‌های پساب، مطابق با روش Koch، رقت‌های متوالی تهیه گردید. متعاقباً ۰/۱ ml از رقت‌های مختلف تهیه‌شده، به‌طور جداگانه بر روی محیط Luria Bertani Agar ۵mM نیترات سرب (II) کشت داده شدند. پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰°C گرماگذاری شده و پس از طی این مدت زمان بررسی شدند. در مرحله بعد از میان انواع میکروارگانیسم‌های رشدیافته بر روی پلیت‌ها، کلنی‌های باکتریایی براساس خصوصیات مورفولوژیکی انتخاب شده و خالص‌سازی آنها تا به دست آوردن تک کلنی‌های باکتریایی بر روی محیط Nutrient Agar ادامه یافت. در نهایت از کلنی‌های تک به دست آمده، گسترش میکروبی تهیه و رنگ‌آمیزی گرم انجام شد (۸-۶).

تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد (MIC):

براساس روش Agar Dilution، در ابتدا محیط LB Agar حاوی غلظت‌های متفاوتی از نیترات سرب (II) (۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰ Mm) تهیه گردید. سپس میزان ۲۰ μl از سوسپانسیون باکتریایی به کدورت ۰/۵ مک فارلند که معادل 10^6 CFU spot⁻¹ می‌باشد، بر روی سطح محیط‌های کشت به‌صورت لکه‌گذاری تلقیح شد. این عمل برای تمام جدایه‌های به دست آمده از مرحله قبل به انجام رسید. در نهایت پلیت‌ها در دمای ۳۰°C و در ۲ مدت زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت گرماگذاری شدند و پس از طی مدت زمان لازم مورد بررسی قرار گرفتند (۱۱-۹).

گزینش جدایه‌های دارای قابلیت جذب فلز: به‌منظور

غربال‌سازی سریع جدایه‌های باکتریایی جذب‌کننده فلز سرب، از روش به کار گرفته شده توسط Pümpel و همکارانش (سال ۱۹۹۵) استفاده شد. برطبق این روش، ابتدا جدایه‌های باکتریایی برگزیده شده از مرحله قبل، بر روی محیط LB Agar فاقد سرب به‌صورت نقطه‌ای (Punctual Inoculation) کشت داده شدند. در ادامه، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت، در دمای ۳۰°C گرماگذاری شدند. سپس در شرایط استریل، حدود ۱۰-۸ ml از مخلوط آگار

پساب حاوی سرب، توسط صنایعی از قبیل باتری‌سازی، رنگ‌کاری، ساخت تسلیحات، شیشه‌سازی، صنعت چاپ و ... ایجاد می‌شود (۳، ۴). مسمومیت با سرب علائم خود را به دو صورت حاد و مزمن نشان می‌دهد. جذب غبار سرب از طریق مجاری تنفسی، شایع‌ترین علت مسمومیت صنعتی است. مقدار جذب سرب از طریق دستگاه گوارش در بالغین ۱۰٪ و در اطفال ۵۰٪ می‌باشد. از علائم بالینی مسمومیت با سرب می‌توان به آنمی اشاره نمود که به‌علت کمبود آهن و یا همولیز گلبول‌های قرمز صورت می‌گیرد. مطالعات نشان داده است سرب افراد را مستعد پرفشار خونی نیز می‌کند (سطوح $30 \mu\text{g dl}^{-1}$ یا کمتر از آن). تظاهرات بالینی دیگر در مسمومیت با سرب، به‌صورت کاهش شنوایی، اختلال بینایی، تغییرات رفتاری، اختلالات خواب، سردرد، انسفالوپاتی، تشنج، نفروپاتی، نقرس، کرامپ‌های شکمی، بیوست، سقط جنین و مرده‌زایی بروز می‌کند (۵). روش‌های مختلفی برای زدودن فلزات سنگین از فاضلاب‌های صنعتی وجود دارد که در ۲ دسته کلی طبقه‌بندی می‌شوند: روش‌های آبیوتیک و روش‌های بیوتیک.

روش‌های آبیوتیک بسیار پرهزینه بوده و برای محیط زیست مضر هستند، بالعکس تکنیک‌های بیوتیک نه تنها مقرون به‌صرفه و بی‌خطر برای محیط زیست می‌باشند؛ بلکه راندمان عمل بالایی نیز دارند (۲). تکنیک‌های بیوتیک متداول در پاک‌سازی زیستی فلزات شامل Biosorption و Bioaccumulation می‌باشند. جذب زیستی (Biosorption) در جذب غیرفعال مواد سمی از جمله فلزات توسط مواد بیولوژیکی غیرفعال/مرده و یا مواد نشأت گرفته از منابع بیولوژیکی است، در حالی که Bioaccumulation به‌عنوان جذب مواد سمی از جمله فلزات سنگین به‌وسیله سلول‌های زنده تعریف می‌شود (۲). در سال‌های اخیر، انواع جذب‌های زیستی حذف‌کننده فلزات سنگین که عمدتاً شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها، مواد زائد صنعتی، مواد زائد کشاورزی و دیگر مواد پلی‌ساکاریدی هستند، به‌طور وسیعی بررسی شده‌اند (۲، ۳).

در این پژوهش، جداسازی جذب‌های باکتریایی مناسب جهت حذف سرب و بهینه‌سازی چند فاکتور مؤثر در جذب بیولوژیکی توسط آنها بررسی گردید.

(بررسی سینتیک جذب)، حدود ۰/۵g از زیست توده مرطوب جدایه مورد نظر با ۵۰ ml از محلول فلزی با غلظت 500 mg l^{-1} و $\text{pH}=5$ در مدت زمان‌های مختلف (۱۴۴۰، ۱۰۸۰، ۳۰۰، ۱۲۰، ۶۰، ۳۰، ۱۵) در شیکر انکوباتوری با دمای 30°C و دور 150 rpm مجاورسازی شدند. پس از طی هریک از مدت زمان‌های مذکور، سانتریفوژ انجام شد و غلظت فلز سرب در سوپرناتانت به دست آمده از سانتریفوژ هریک از نمونه‌ها، به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی ارزیابی گردید (۱۶). در ارتباط با بهینه‌سازی pH ، ابتدا محلول‌های فلزی با غلظت معین 500 mg l^{-1} و با مقادیر متفاوتی از pH از ۳-۶ با اختلاف ۰/۵ تهیه شد. سپس حدود ۰/۵g از زیست توده مرطوب جدایه انتخابی به صورت جداگانه به محلول‌های فلزی با مقادیر pH مختلف تلقیح شد. مجاورسازی در مدت زمان ۲ ساعت و دمای 30°C با دور شیکر 150 rpm انجام گردید. پس از مجاورسازی و سانتریفوژ، غلظت فلز سرب باقیمانده به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی آنالیز شد (۱۱،۷). در خصوص بهینه‌سازی وزن مرطوب زیست توده باکتریایی، ابتدا زیست توده مرطوب ۲ جدایه باکتریایی با وزن‌های مختلف (۱g، ۰/۶، ۰/۵، ۰/۴، ۰/۳، ۰/۲) تهیه گردید. سپس هر کدام از زیست توده‌های مرطوب جدایه Q-III به طور جداگانه با ۵۰ ml از محلول فلزی با غلظت مشخص 500 mg l^{-1} و $\text{pH}=5$ و زیست توده‌های مرطوب جدایه P-II با وزن‌های متفاوت، به صورت مجزا با ۵۰ ml از محلول فلزی با غلظت 500 mg l^{-1} و $\text{pH}=5/5$ مجاورسازی شدند. سایر شرایط مجاورسازی زیست توده باکتریایی با محلول فلزی، برای هر ۲ جدایه مورد نظر یکسان در نظر گرفته شد. پس از مجاورسازی و سانتریفوژ، غلظت فلز باقیمانده در هریک از نمونه‌ها ارزیابی گردید (۱۳).

یافته‌ها

پس از تهیه رقت‌های متوالی از نمونه‌های پساب و متعاقباً کشت آنها بر روی محیط LB Agar حاوی ۵mM نیترات سرب (II)، کلنی‌های مختلفی اعم از باکتری، قارچ و مخمر بر روی محیط رشد کردند که نشان‌دهنده مقاومت انواع متفاوتی از میکروارگانیسم‌ها نسبت به فلز مذکور بود. در مرحله بعد، از میان انواع میکروارگانیسم‌های رشد یافته

(15 g l^{-1}) و نیترات سرب (II) با غلظت‌های مختلف (۱۲mM، ۱۰، ۸، ۶، ۴، ۲) به طور جداگانه بر روی کلنی‌های رشد یافته، اضافه گردید. پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای 30°C گرماگذاری شدند؛ تا جدایه‌های باکتریایی در طی این مدت اجازه یابند فلز سرب را جذب کنند. پس از طی شدن زمان گرماگذاری، امکان مجاورسازی کلنی‌های باکتریایی با گاز سولفید هیدروژن از طریق اضافه کردن ۳g سولفید سدیم به ۱۰٪ HCl، درون دسیکاتور فراهم گردید. در نهایت آن دسته از کلنی‌هایی که در اطراف آنها هاله‌ای شفاف و باریک نمایان شده بود، برای ادامه پژوهش انتخاب شدند (۱۲).

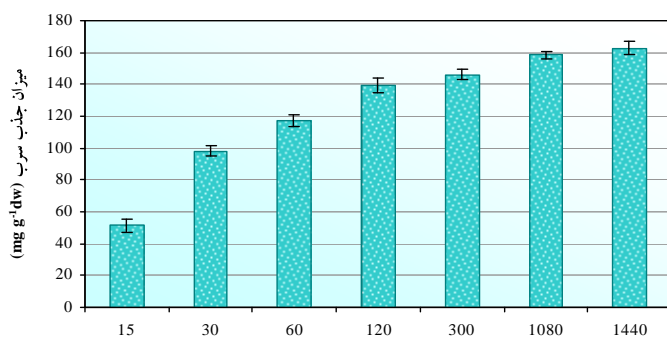
تعیین میزان کمی جذب سرب: جهت به دست آوردن میزان کمی جذب فلز توسط هریک از جدایه‌های باکتریایی غربال شده و در نهایت انتخاب بهترین جدایه‌های جاذب فلز سرب به طریق زیر عمل شد: حدود ۰/۵g از هریک از زیست توده‌های باکتریایی (وزن مرطوب) به طور جداگانه با ۵۰ ml از محلول نیترات سرب (II) با غلظت 500 mg l^{-1} به مدت ۲۴ ساعت در $\text{pH}=5$ و دمای 30°C و دور شیکر 150 rpm مجاورسازی شدند. پس از طی مدت زمان مجاورسازی، سوسپانسیون‌ها به مدت ۸min در دمای 4°C و با دور 1000 rpm سانتریفوژ شدند و در نهایت میزان محتوای فلزی سوپرناتانت آنها به وسیله دستگاه AAS (Atomic Absorption Spectroscopy) تعیین گردید (۶)، همچنین به منظور ارزیابی داده‌های به دست آمده از فرمول زیر

$$Q = V (C_0 - C_f) / M$$

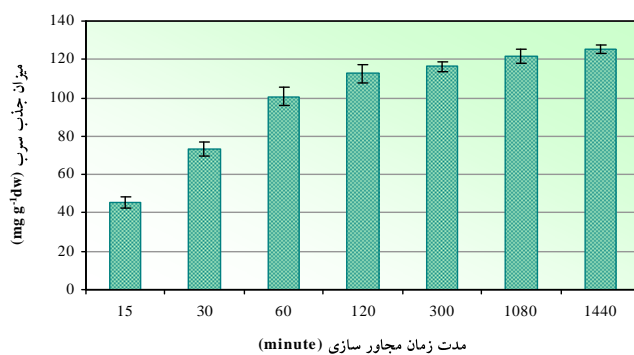
استفاده شد (۱). در این فرمول، پارامتر Q معرف میزان جذب فلز توسط زیست توده است که با واحد mg فلز جذب شده در هر g وزن خشک باکتری ($\text{mg g}^{-1} \text{ dw}$) بیان می‌شود. پارامتر V معرف حجم محلول فلزی بر حسب l، C_0 غلظت اولیه محلول بر حسب mg l^{-1} ، C_f غلظت نهایی فلز پس از مجاورسازی بر حسب mg l^{-1} و پارامتر M وزن خشک زیست توده بر حسب g می‌باشد (۱۳، ۱۴). پس از انجام مراحل فوق، شناسایی ۲ جدایه باکتریایی مؤثر در جذب فلز سرب، بر اساس مشخصات مورفولوژیکی کلنی، رنگ آمیزی گرم و تست‌های مختلف بیوشیمیایی صورت گرفت (۱۵).

بهینه‌سازی چند فاکتور مؤثر در فرآیند جذب سرب: به منظور تعیین زمان تماس بهینه زیست توده با محلول فلزی

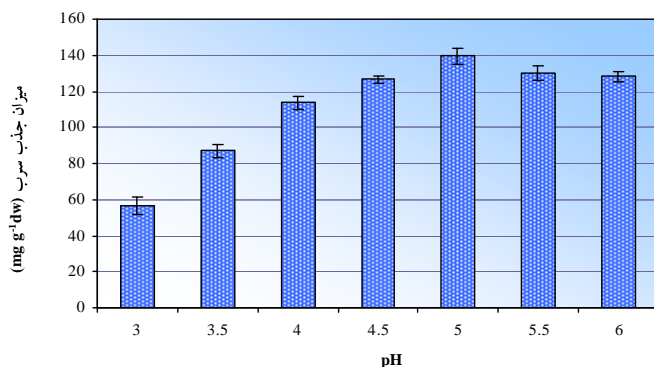
حاصله حاکی از آن بود که احتمالاً جدایه Q-III به جنس باسیلوس (*Bacillus sp*) و جدایه P-II به جنس سودوموناس (*Pseudomonas sp*) تعلق دارد. نمودارهای شماره ۲ و ۳، ظرفیت جذب زیستی ۲ جدایه مورد نظر را در زمان تماس‌های مختلف نشان می‌دهند. در نمودارهای شماره ۴ و ۵، میزان جذب سرب توسط هر یک از ۲ جدایه مؤثر در مقادیر متفاوت pH محلول فلزی نشان داده شده است. نتایج حاصل از بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف زیست توده باکتریایی در محلول فلزی بر روی میزان جذب سرب نیز در نمودارهای شماره ۶ و ۷ ارائه شده است.



نمودار شماره ۲: سینتیک جذب سرب توسط جدایه Q-III (Mean±SE)

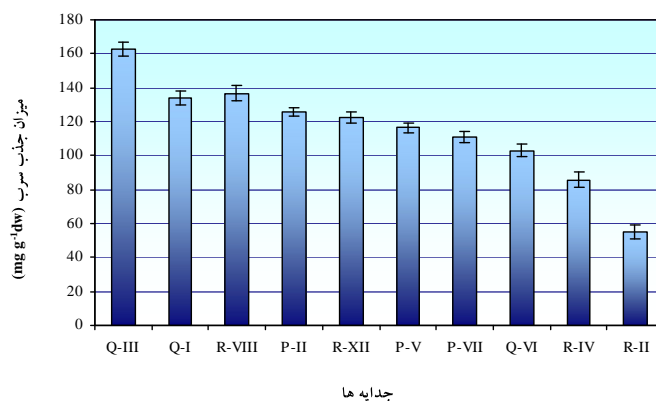


نمودار شماره ۳: سینتیک جذب سرب توسط جدایه P-II (Mean±SE)



نمودار شماره ۴: اثر pH محلول فلزی بر میزان جذب سرب توسط جدایه Q-III (Mean±SE)

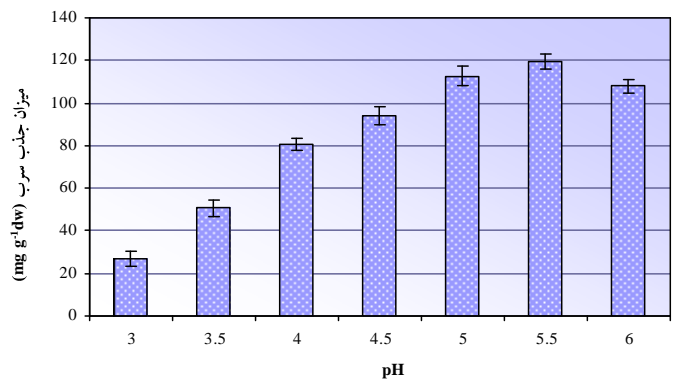
بر روی پلیت‌ها، کلنی‌های باکتریایی براساس خصوصیات ماکروسکوپی انتخاب و خالص‌سازی آنها بر روی محیط Nutrient Agar انجام گرفت. سپس ۲۹ جدایه باکتریایی تحمل‌کننده مقاوم به سرب جداسازی شدند که پس از رنگ آمیزی گرم، ۲۲ جدایه به صورت گرم مثبت و ۷ جدایه گرم منفی بود. براساس نتایج به دست آمده از تعیین حداقل غلظت مهارکننده رشد، ۲۹ جدایه مذکور به ترتیب ۱۷، ۳۲، ۲۸، ۱۷، ۳ و ۳٪ جدایه‌ها به <6 ، ۶، ۷، ۸، ۹، >10 mM از سرب مقاومت نشان دادند. از این میان، ۱۵ جدایه مقاوم به سرب با $MIC \geq 7$ mM برای بررسی جذب سرب انتخاب شدند. در مرحله گزینش با استفاده از تکنیک Pimpel و همکارانش، ۱۰ جدایه دارای قابلیت جذب فلز شامل: یک کوکوباسیل گرم منفی، ۲ باسیل گرم منفی و ۷ باسیل گرم مثبت انتخاب شدند. سپس ظرفیت جذب یون‌های Pb(II) در هر یک از ۱۰ جدایه انتخابی به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی و پس از انجام محاسبات لازم مورد ارزیابی قرار گرفت.



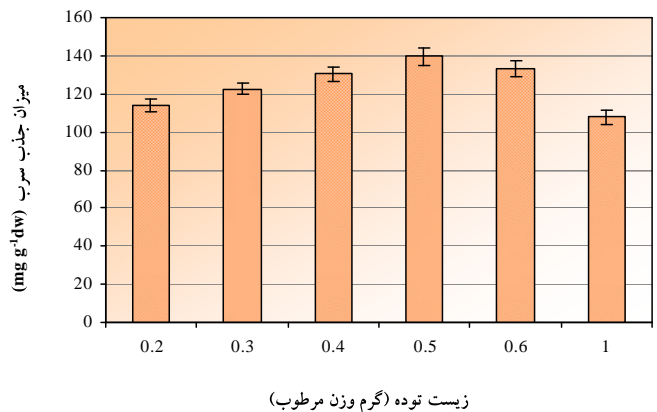
نمودار شماره ۱: مقایسه توانایی جذب سرب جدایه‌های انتخابی (Mean±SE)

از آنجایی که انتخاب یک جدایه گرم مثبت و یک جدایه گرم منفی در فرآیند جذب زیستی سرب مؤثر می‌باشد، لذا پس از تعیین میزان کمی جذب یون‌های Pb(II) توسط هر یک از جدایه‌های موجود و مقایسه آنها با یکدیگر، باکتری Q-III به عنوان جدایه گرم مثبت و باکتری P-II به عنوان جدایه گرم منفی برای ادامه بررسی انتخاب شدند (نمودار شماره ۱). جدایه Q-III در محلول فلزی با غلظت 500 mg l^{-1} و مدت زمان ۲۴ ساعت، ظرفیت جذبی برابر با $162/8 \text{ mg g}^{-1} \text{ dw}$ از سوی دیگر جدایه P-II در همان شرایط ذکر شده میزان کمی جذبی معادل با $125/6 \text{ mg g}^{-1} \text{ dw}$ داشت، که در پی آن ۲ جدایه مذکور شناسایی شدند و نتایج

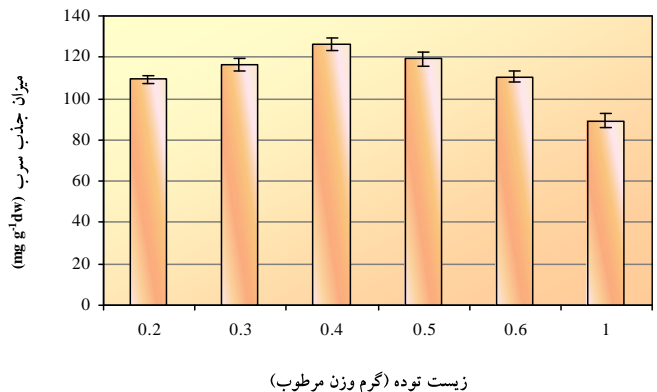
جدایه Q-I و Q-III به ترتیب قادر به تحمل ۱۰ و ۹mM از نیترات سرب (II) بودند. Mergeay بیان نمود حداقل غلظت مهارکنندگی ۲ فلز Zn و Pb برای E. Coli به ترتیب برابر ۱ و ۵mM می‌باشد (۱۷). Roane از خاک‌های آلوده با فلز سرب، ۲ جدایه مقاوم به سرب *Bacillus Megaterium* و *Pseudomonas Marginalis* را جداسازی کرد که مقادیر MIC آنها به ترتیب برابر با ۲/۵ و ۰/۶mM بود (۱۸). Malik و همکارانش نیز سویه‌های باکتریایی را از خاک‌های صنعتی جدا نمودند و MIC معادل با ۰/۳mM را برای جیوه و ۷/۲۳mM را برای فلرات دیگری از قبیل سرب و کادمیوم گزارش کردند (۱۹). با توجه به مواردی که به آن اشاره شد، ۱۵ جدایه پژوهش کنونی (در حدود ۵۱٪ کل جدایه‌ها) به‌ویژه جدایه‌های Q-I و Q-III، در قیاس با اغلب باکتری‌های دیگری که در زمینه میزان مقاومت به فلز سرب بررسی شده‌اند قادر به تحمل تراکم‌های بالایی از نیترات سرب می‌باشند و به همین جهت برای بررسی جذب سرب انتخاب می‌شوند. پس از اعمال روش Pümpel و همکارانش بر روی ۱۵ جدایه باکتری، دو نتیجه اصلی در ارتباط با جدایه‌های بیوجذب کننده سرب مشاهده گردید که عبارت بودند از: رنگ گرفتن کلنی آنها به دلیل جمع‌آوری، انباشته شدن فلز و تشکیل هاله‌های شفاف در اطراف کلنی‌ها در درون آگار یک‌پارچه تیره رنگ که این امر می‌توانست ناشی از انتشار فلز به سمت سلول باکتری باشد (۱۲). در این بررسی، به تدریج و با بالا بردن غلظت سرب در محیط، اثر مجاورسازی گاز سولفید هیدروژن با کلنی‌ها بر میزان رسوب سیاه رنگ سولفید سرب در محیط افزوده شد؛ به‌طوری‌که دامنه رنگ محیط از رنگی مطابق با رنگ محیط فاقد سرب تا قهوه‌ای تیره متغیر بود. در این روش دامنه غلظت مناسب برای آنکه آگار به‌طور یکنواخت رنگ بگیرد، رنگ کلنی‌ها به اندازه کافی باشد و هاله‌های شفاف اطراف کلنی‌ها مشاهده شوند، بین ۲-۶mM به دست آمد. Chang و همکارانش، میزان 2 g l^{-1} از زیست توده باکتری *Pseudomonas Aeruginosa* PU21 را به مدت ۲۴ ساعت در مجاورت با محلول فلزی با غلظت 500 mg l^{-1} و $\text{pH}=5/5$ قرار دادند و در نهایت میزان جذب سرب را $79/5 \text{ mg g}^{-1} \text{ dw}$ گزارش نمودند (۲۰). Selatnia و همکارانش عنوان کردند که باکتری *Streptomyces Rimosus* پیش تیمار شده با NaOH، در دمای



نمودار شماره ۵: اثر pH محلول فلزی بر میزان جذب سرب توسط جدایه P-II (Mean±SE)



نمودار شماره ۶: تأثیر غلظت زیست توده جدایه Q-III بر میزان جذب سرب (Mean±SE)



نمودار شماره ۷: تأثیر غلظت زیست توده جدایه P-II بر میزان جذب سرب (Mean±SE)

بحث

از میان ۲۹ جدایه باکتریایی به دست آمده در مرحله غربال‌سازی، ۱۵ جدایه با توان مقاومت در غلظت‌های نسبتاً بالایی از نیترات سرب ($\text{MIC} \geq 7 \text{ mM}$) برگزیده شدند. از میان ۱۵ جدایه مذکور، ۲

زمان میزان جذب فلز توسط ۲ جدایه مورد آزمایش در حد مناسب و قابل قبولی بود. به طور کلی در صنعت؛ سرعت عمل، فاکتور مهمی است و جذب بیشتر در مدت زمان کوتاهتر از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه می باشد. در ارتباط با جذب زیستی یونهای فلزات سنگین، pH یکی از مهم ترین فاکتورهای محیطی به شمار می رود. Lopez و همکارانش، گزارش کردند که بالاترین میزان جذب سرب توسط باکتری *Pseudomonas Fluorescence AF39* در pH=۷ صورت می گیرد (۲۳). pH بهینه برای دست یافتن به حداکثر جذب سرب در *Bacillus sp. (OGUB OO1)* برابر ۴/۵ است (۲۴). در ارتباط با *Pseudomonas Aeruginosa ASU 6a*، مقادیر pH بهینه برای جذب یونهای Ni(II) و Pb(II) به ترتیب برابر با ۶ و ۷ می باشد (۱۱). در این مطالعه، ماکزیمم میزان جذب فلز سرب توسط زیست توده ۲ جدایه Q-III و P-II، زمانی بود که pH محلول فلزی برای ۲ جدایه نام برده به ترتیب معادل با ۵ و ۵/۵ انتخاب شد. همان طور که مشاهده می شود نتایج به دست آمده از این مطالعه مشابه نتایج تحقیقات مذکور است. در مقادیر پایین pH، غلظت پروتون بالا است، بنابراین گروههای عاملی دیواره سلولی در ارتباط تنگاتنگی با یونهای هیدرونیوم (H_3O^+) قرار می گیرند و بدین ترتیب در اثر نیروی دافعه میان یونهای هیدرونیوم و کاتیونهای فلزی، دسترسی کاتیونها به سایت های اتصال کاهش می یابد. با افزایش pH، سایت های اتصال فلز دیپروتونه می شوند، در نتیجه تعداد گروههای عاملی با بار منفی در روی دیواره سلولی افزایش می یابند که این مسئله جذب فلز را آسان می کند (۲، ۳، ۱۱). با مطالعه یافته های به دست آمده در این آزمایش و گزارش های دیگر می توان چنین نتیجه گرفت که در اغلب موارد pH اسیدی ضعیف تا خنثی منجر به حداکثر جذب زیستی می شود. غلظت زیست توده، فاکتور دیگری است که بر روی میزان جذب زیستی تأثیرگذار است. Chang و همکارانش نشان دادند بیشترین میزان جذب زمانی است که غلظت زیست توده (بر مبنای وزن خشک) باکتری *Pseudomonas Aeruginosa PU21*، در حدود $1-2g I^{-1}$ باشد (۲۰). در تحقیقی دیگر *Selatnia* و همکارانش، میزان جذب یونهای Pb(II) را در غلظت های مختلف زیست توده باکتری *Streptomyces Rimosus* از $1-10g I^{-1}$ (بر مبنای وزن خشک) بررسی کردند (۲۱). نتایج به دست آمده حاکی

محیط و غلظت اولیه محلول فلزی $800mg I^{-1}$ با غلظت زیست توده معادل با $3g I^{-1}$ ، ظرفیت جذبی برابر با $135mg g^{-1}dw$ را نشان می دهد (۲۱). Al-Garni با بررسی ظرفیت جذب سرب ۲ باکتری *Klebsiella Pneumoniae* و *Citrobacter Freundii* در شرایطی شامل غلظت زیست توده $2g I^{-1}$ ، غلظت محلول فلزی $481mg I^{-1}$ ، pH=۴ و دمای $25^{\circ}C$ ، ماکزیمم جذبی معادل با $42/8mg g^{-1}dw$ و $48/9mg g^{-1}dw$ را به ترتیب برای ۲ باکتری *C. Freundii* و *K. Pneumoniae* به دست آورد (۲۲). با در نظر گرفتن نتایج بررسی های یاد شده، جدایه Q-III با ظرفیت جذبی $162/8mg g^{-1}dw$ در غلظت $500mg I^{-1}$ به عنوان جدایه گرم مثبت و جدایه P-II به عنوان جدایه گرم منفی با میزان کمی جذبی معادل با $125/6mg g^{-1}dw$ در همان شرایط ذکر شده برای انجام مراحل بعدی پژوهش انتخاب شدند. Ray و همکارانش (۳)، بیان داشتند که باکتری *Bacillus Cereus M¹⁶* حداکثر جذب برابر با ۸۴٪ را در غلظت فلزی $100mg I^{-1}$ ، pH=۶ و مدت زمان ۳۰min نشان می دهد و از این زمان به بعد منحنی جذب سرب تقریباً حالت خطی پیدا می کند. Tunali و همکارانش، تأثیر زمان تماس را بر روی بیوجذب ۲ فلز Pb(II) و Cu(II) توسط *Bacillus sp. (ATS-1)* در غلظت $100mg I^{-1}$ و دمای ثابت $25^{\circ}C$ بررسی نمودند (۷)، نتایج به دست آمده جذب سطحی سریع یونهای Pb(II) و Cu(II) را به ترتیب در طی ۱۵ و ۳۰min اول مجاورسازی نشان داد، اما پس از گذشت مدت زمان های یاد شده با افزایش زمان تماس تغییر قابل توجهی در میزان جذب مشاهده نگردید. با توجه به نمودارهای شماره ۲ و ۳ در پژوهش کنونی، چنین استنباط می شود که با افزایش مدت زمان مجاورسازی، بر میزان جذب سرب توسط ۲ جدایه مورد نظر افزوده می شود، اما این روند افزایش جذب فلز پس از مدت زمان ۱۲۰min چندان قابل توجه نیست. به علاوه، نتایج به دست آمده حاکی از آن است که جدایه های Q-III و P-II ظرف مدت ۱۲۰min به ترتیب به ۸۶٪ و ۹۰٪ از حداکثر توان جذب فلزی خود می رسند. با توجه به اینکه هدف از بهینه سازی مدت زمان مجاورسازی، در حقیقت تعیین حداکثر میزان جذب سرب در حداقل زمان مجاورسازی است، بنابراین در مطالعه حاضر، در ارتباط با هر ۲ جدایه مذکور، زمان مجاورسازی ۱۲۰min انتخاب گردید. زیرا در طول این مدت

به صورت متراکم در می‌آیند. در نتیجه سایت‌های اتصال پوشانده شده و افت میزان جذب سرب حاصل می‌گردد. در نهایت، کاهش میزان جذب یون‌های Pb(II) در غلظت‌های بالای زیست توده را می‌توان به محدود شدن تحرک یون‌های فلزی نسبت داد (۲، ۳، ۷، ۲۰، ۲۱).

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، ۲ جدایه باکتریایی به دست آمده دارای کارایی بسیار بالایی در حذف آلاینده سرب از محلول‌های فلزی می‌باشند. از این رو ۲ جدایه مذکور می‌توانند در جهت تولید بیوجاذب‌ها بسیار مفید بوده و در تصفیه پساب‌های آلوده به فلزات سنگین مورد استفاده قرار گیرند. در این مطالعه، بخش عمده جذب سرب توسط جدایه‌های مورد نظر طی ۲ ساعت نخست صورت گرفت که این مسئله از لحاظ اقتصادی حایز اهمیت می‌باشد. همچنین مشخص گردید فرآیند جذب سرب متأثر از عوامل محیطی دیگری از قبیل pH، غلظت زیست توده و ... می‌باشد. در ضمن پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آتی مکانیسم جذب سرب، همچنین محل تجمع یون‌های سرب در سلول‌های ۲ جدایه انتخابی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی گذاره بررسی و تعیین گردد.

از آن بود که با افزایش غلظت زیست توده از 1^{-3}g l^{-1} بر میزان جذب یون‌های سرب افزوده می‌شود، اما پس از آن یعنی در غلظت‌های بالاتر از 1^{-3}g l^{-1} ، میزان جذب کاهش می‌یابد. نتایج حاصل از بررسی حاضر، نشان‌دهنده آن است که بیشترین میزان جذب زمانی است که غلظت زیست توده مرطوب برای ۲ جدایه P-II و Q-III به ترتیب برابر $0/5$ و $0/4 \text{g}$ وزن مرطوب (معادل $1/8$ و $1/6 \text{g l}^{-1}$ وزن خشک) در 50 ml از محلول فلزی با غلظت 50 mg l^{-1} باشد. نتیجه کسب شده از این بررسی با نتایج گزارشات دیگر نیز همخوانی دارد. با افزایش غلظت زیست توده تا حد معینی بر میزان جذب سرب افزوده می‌شود. این افزایش ممکن است به دلیل افزایش سطح تماس Biosorbent و در پی آن افزایش تعداد سایت‌های اتصال باشد که به موجب آن میانکنش بین سایت‌های اتصال و یون‌های فلزی افزایش می‌یابد. از سوی دیگر، اگر غلظت زیست توده در محلول فلزی از حد معینی فراتر رود، کاهش میزان جذب سرب را در پی خواهد داشت. دلایل احتمالی مشاهده فوق از این قرار است که نخست در غلظت‌های بالای زیست توده، برهمکنش‌های الکتروستاتیکی میان سلول‌ها یا به عبارت دقیق‌تر تداخل میان سایت‌های اتصال مانع از پر شدن سایت‌های اتصال توسط یون‌های فلزی می‌شود. علت دوم آنکه در غلظت‌های بالای زیست توده، گرانول‌های زیست توده به هم اتصال یافته و

References:

1. Dabiri M. Environmental Pollution: Air, Water, Soil, and Noise. 6th ed. Tehran: Etehad; 2008. p. 281-289. [Text in Persian]
2. Vijayaraghavan K, Yun Y. Bacterial Biosorbents and Biosorption. Journal of Biotechnology Advances 2008;26:266-291.
3. Ray L, Paul S, Bera D, Chattopadhyay P. Bioaccumulation of Pb(II) from Aqueous Solutions by Bacillus Cereus M¹⁶. Journal of Hazardous Substance Research 2005;5:1-21.
4. Athar M, Vohora SB. Heavy Metals & Environment. Sanandaj: Islamic Azad University of Sanandaj; 2007. p. 10-11. [Text in Persian]
5. Katzung BG. Basic & Clinical Pharmacology. 9th ed. Tehran: Naslefar; 2004. p. 1213-1218. [Text in Persian]
6. Lu WB, Shi JJ, Wang, CH, Chang JS. Biosorption of lead, Copper and Cadmium by an Indigenous Isolate Entrobacter sp. J1 Possessing High Heavy Metal Resistance. Journal of Hazardous Materials 2006;B134:80-86.
7. Tunali S, Cabuk A, Akar T. Removal of Lead and Copper from Aqueous Solutions by Bacterial Strain Isolated from Soil. Chemical Engineering Journal 2006;115:203-211.
8. Vullo DL, Ceretti HM, Daniel MA, Ramirez SAM, Zalts A. Cadmium, Zinc and Copper Biosorption Mediated by Pseudomonas Veronii 2E. Bioresource Technology 2008;99:5574-5581.
9. Ansari MI, Malik A. Biosorption of Nickel and Cadmium by Metal Resistant Bacterial Isolates from Agricultural Soil Irrigated with Industrial Wastewater. Bioresource Technology 2007;98:3149-3153.

10. Edward Raja C, Anbazhagan K, Selvam GS. Isolation and Characterization of a Metal-Resistant *Pseudomonas Aeruginosa* Strain. *Word J Microbiol Biotechnol* 2006;22:577-586.
11. Gabr RM, Hassan SHA, Shoreit AAM. Biosorption of Lead and Nickel by Living and Non-Living Cells of *Pseudomonas Aeruginosa* ASU 6a. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2008;62(2):195-203.
12. Pümpel T, Pernfuß B, Pigher B, Diels L, Schinner F. A Rapid Screening Method for the Isolation of Metal-Accumulating Microorganisms. *Journal of Industrial Microbiology* 1995;14:213-217.
13. Bahadir T, Bakan G, Altas L, Buyukgungor H. The Investigation of Lead Removal by Biosorption: An Application at Storage Battery Industry Wastewaters. *Enzyme and Microbial Technology* 2007;41:98-102.
14. Hammami A, Gonzáles F, Ballester A, Blázquez ML, Muñoz JA. Biosorption of Heavy Metals by Activated Sludge and Their Desorption Characteristics. *Journal of Environmental Management* 2007;84:419-426.
15. Bergey DH, Staley TJ, King RN, J Brenner D. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 6th ed. New York: Springer; 2005. p. 323-380, 1123-1129.
16. Ilhan S, Nourbakhsh MN, Kilicarslan S, Ozdag H. Removal of Chromium, Lead and Copper from Industrial Wastewaters by *Staphylococcus Saprophyticus*. *Turkish Electronic Journal of Biotechnology* 2004;2:50-57.
17. Mergeay M. Heavy Metal Resistance in Microbial Ecosystems. *Mol Microb Ecol Man* 1995;6:7-17.
18. Roane TM, Kellogg ST. Characterization of Bacterial Communities in Heavy Metal Contaminated Soils. *Can J Microbiol* 1995;42:593-603.
19. Malik A, Khan IF, Aleem A. Plasmid Incidence in Bacteria from Agricultural and Industrial Soils. *Word J Microbiol Biotechnol* 2002;18:827-833.
20. Chang JS, Law R, Chang CC. Biosorption of Lead, Copper and Cadmium by Biomass of *Pseudomonas Aeruginosa* PU21. *Water Research* 1997;31:1651-1658.
21. Selatnia A, Boukazoula A, Kechid N, Bakhti MZ, Chergui A, Kerchich Y. Biosorption of Lead (II) from Aqueous Solution by a Bacterial Dead *Streptomyces Rimosus* Biomass. *Biochemical Engineering Journal* 2004;19:127-135.
22. Al-Garni SM. Biosorption of Lead by Gram-ve Capsulated and Non-Capsulated Bacteria. *Water SA* 2005;31:250-354.
23. Lopez A, Larao N, Priego J, Marques A. Effect of pH on the Biosorption of Nickel and Other Heavy Metals by *Pseudomonas Fluorescence* AF39. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 2001;24:146-151.
24. Nourbakhsh MN, Kilicarslan S, Ilhan S, Ozdag H. Biosorption of Cr²⁺ and Cu²⁺ Ions in Industrial Wastewater on *Bacillus* sp. *Chemical Engineering Journal* 2002;85:351-355.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.