بررسی پارامترهای مؤثر برجذب فلز کادمیوم توسط باکتری هالوموناس (*Halomonas*) جداسازی شده از تالاب میانکاله استان گلستان

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:51 +0430 on Sunday May 12th 2019

شیوا شعبان نژاد[۱]
فاطمه کاردل[۲]*
سلمان احمدی اسب چین[۳]
شیلا امیدظهیر[۴]

۱ و ۴. زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه مازندران، مازندران، ایران
۲. گروه علوم محیطزیست، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، مازندران، ایران
۳. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، مازندران، ایران

***مسئول مکاتبات:**
f.kardel@umz.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۲/۲۹
کد مقاله: ۱۳۹۷۰۴۰۵۵۴
این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد است.

چکیده

تالاب‌ها ازجمله اکوسیستم‌های حساسی می‌باشند که امروزه به دلیل افزایش جمعیت و ورود پساب صنایع مختلف از قبیل کشاورزی، فلزکاری، پتروشیمی حضور فلزات سنگین مختلف در آن‌ها بالا است. فلزات سنگین به دلیل پایداری و تجمع در جانداران می‌توانند منجر به تأثیرات اکولوژیکی زیادی در تالاب‌ها شوند. باکتری‌ها به دلیل سازگاری با طبیعت و نسبت سطح به حجم بالا برای جذب یون‌های فلزی از محیط آبی مناسب‌اند. در این تحقیق از آب تالاب میانکاله در عمق ۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متری از سطح آب در ۵ ایستگاه در مهر ۱۳۹۴ نمونه‌برداری شد. مقاوم‌ترین سویه گرم منفی نسبت به فلز کادمیوم از محیط کشت جداسازی شده بود. جهت تعیین اسیدیته، دما و شوری بهینه برای جذب فلز کادمیوم توسط باکتری *Halomonas*، آزمایش‌ها به ترتیب در اسیدیته ۴، ۵، ۶، ۷، ۸ و ۹، در دماهای ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد و در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد کلرید سدیم موردبررسی قرار گرفتند. درنهایت سنجش غلظت کادمیوم باقیمانده در محلول‌ها با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل AA240FS ساخت شرکت Varian آمریکا) انجام شد. همچنین گروه‌های عاملی مؤثر در جذب کادمیوم با استفاده از طیف‌سنجی FT-IR شناسایی گردید. نتایج نشان دادند این باکتری بهترین رشد را در شوری ۱۰٪ داشته و به غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم مقاوم بوده است. همچنین تحقیق حاضر نشان داد که بهینه جذب فلز کادمیوم توسط این باکتری در اسیدیته ۸، شوری ۵٪ و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد است. نتایج آنالیز FT-IR نشان داد که گروه‌های سطحی مؤثر این باکتری در جذب فلز کادمیوم شامل هیدروکسیل، آمید، کربونیل و آلکان می‌باشند. این پژوهش نشان داد باکتری *Halomonas* جاذب زیستی مناسبی جهت حذف فلز کادمیوم از محیط‌های آبی می‌باشد؛ بنابراین، باکتری هالوموناس می‌تواند برای تصفیه پساب‌های حاوی غلظت بالایی از فلز کادمیوم و همچنین در بازیافت این فلز در صنایع مختلف بکار رود.

واژه‌های کلیدی: جذب زیستی، فلز کادمیوم، باکتری هالوموناس، تالاب میانکاله.

مقدمه

حضور فلزات سنگین اثرات سوء اکولوژیک بسیاری را در اکوسیستم‌های آبی و بالأخص در تالاب‌ها که یک محیط آبی بسته‌تری نسبت به دریاها می‌باشند در پی دارد. فلزات سنگین به دلیل پایداری و عدم تجزیه زیستی و در بدن موجودات آبزی تجمع یافته و به سطوح بالاتر زنجیره غذایی انتقال می‌یابد که درنهایت ممکن است منجر به آسیب‌های بافتی و یا تشدید عوامل بیماری‌زا در موجودات آبزی و بخصوص انسان‌ها گردد. از مهم‌ترین منابع تخلیه فلزات سنگین به محیطزیست آبی پساب صنایع مختلفی از قبیل صنایع فلزکاری، نفت و پتروشیمی می‌باشند (Hussein *et al*., 2009)، در این میان یکی از آلاینده‌های فلز سمی کادمیوم است. وجود این عنصر و ترکیبات آن حتی در مقادیر بسیار کم در صنایع خطرناک است و باید تا حد امکان حذف شود، تاکنون مطالعات گسترده‌ای در مورد روش‌های پاک‌سازی محیط از فلزات سنگین

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:51 +0430 on Sunday May 12th 2019

صورت گرفته است. روش‌های فیزیکی و شیمیایی نظیر تبادل یونی، اسمز معکوس و رسوب‌دهی شیمیایی به‌طور گسترده‌ای برای حذف فلزات بکار گرفته شدند (Mulligan *et al*., 2001)؛ اما بیشتر این روش‌ها به دلیل پرهزینه بودن، غیرانتخابی بودن و اثربخشی محدود بخصوص در غلظت پایین آلودگی و بعضاً ممکن است تولید ماده آلوده جدیدی نیز بکند (Volesky, 2001). فرآیند جذب زیستی فنّاوری جدیدی در زمینه حذف آلاینده‌ها ازجمله فلزات سنگین بر اساس توانایی میکروارگانیسم‌ها است. میکروارگانیسم‌ها به دلیل توانایی در تثبیت یون‌های فلزی، سازگاری با محیط‌های طبیعی و کم‌هزینه بودن برای فرآیند جذب زیستی بسیار مناسب بوده است (Limcharoensuk *et al*., 2015). همچنین میکروارگانیسم‌هایی مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها به دلیل نسبت بالای سطح به حجم و برخورداری از سطوح فعال جذبی، اندازه کوچک و توانایی رشد بالا جاذب‌های زیستی مناسبی محسوب می‌گردند (Wang and Chen, 2009). باکتری‌ها در بیشتر موارد با دو سازوکار متفاوت نسبت به حذف یون‌های محیط پاسخ می‌دهند: سازوکار وابسته به انرژی متابولیک یا ذخیره‌سازی زیستی که مبتنی برجذب فعال است و سازوکار غیر وابسته به انرژی متابولیک یا جذب زیستی که در آن جذب به‌صورت غیرفعال و بیشتر از طریق نیروهای فیزیکوشیمیایی صورت می‌گیرد (بخشی و همکاران، ۱۳۸۸). باکتری‌های هالوفیل (نمک دوست‌ها) به دلیل ویژگی‌هایی مانند رشد سریع، نیاز غذایی کم و توانایی استفاده از ماکرومولکول‌های گوناگون به‌عنوان تنها منبع دریافت انرژی و عدم ایجاد آلودگی در محیط‌زیست برای استفاده در فرآیندهای صنعتی مطلوب هستند (Sanchez-por, 2003). این باکتری‌ها میکروارگانیسم‌هایی هستند که قابلیت زنده ماندن در آب‌شور را دارند. آن‌ها شرایط سخت شوری را تحمل می‌کنند و ظرفیت تنظیم فشار اسمزی را دارند درنتیجه در برابر اثرات تخریبی نمک در محیطشان مقاومت می‌کنند (Das Sarma and Arora, 2001).

فاکتورهای محیطی ازجمله دما، شوری و اسیدیته بر رشد میکروارگانیسم‌ها اثر دارند. بر این اساس برخی از میکروارگانیسم‌ها قادر به زندگی در زیستگاه‌هایی با شرایط محیطی به‌شدت متغیر نظیر درجه حرارت‌های بالا و پایین، محیط‌های قلیایی و اسیدی و غلظت‌های مختلف نمک می‌باشند (Ryckeboer *et al*., 2003).

اسیدیته یکی از مهم‌ترین فاکتورهای محیطی است و نقش مهمی در جذب زیستی دارد. میزان اسیدیته بر فعالیت گروه‌های عاملی در سطح میکروارگانیسم‌ها و در دسترس بودن یون‌های فلزی تأثیر می‌گذارد (Nomanbhay and Palanisamy, 2005). یکی دیگر از پارامترهای تأثیرگذار در جذب زیستی دما است چراکه برخی مطالعات صورت گرفته حاکی از آن است که با افزایش دما، فعالیت یون‌های فلزی در محلول افزایش می‌یابد و درنتیجه به‌راحتی به سطح سلول متصل می‌شوند اما فرآیند جذب معمولاً در دمای بالا به دلیل هزینه‌بر بودن بکار گرفته نمی‌شود (Wang and Chen, 2006). همچنین مطالعات گذشته توسط Kulkarni و همکاران در سال ۲۰۱۴ و Huang و Liu در سال ۲۰۱۳ نشان‌دهنده اهمیت پارامتر شوری بر میزان جذب است که این امر می‌تواند به دلیل رقابت یون‌های کلرید سدیم با یون‌های فلزی در محل اتصال به گروه‌های عاملی باشد (بخشی و همکاران، ۱۳۸۶؛ Amoozegar *et al*., 2012).

لذا هدف تحقیق حاضر بررسی اثرات پارامترهای اسیدیته، دما و شوری بر پتانسیل جذب فلز کادمیوم توسط باکتری هالوموناس جداسازی شده از تالاب میانکاله استان گلستان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از باکتری هالوموناس که از آب تالاب میانکاله که در بین عرض‌های جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۹ دقیقه و ۲۴ ثانیه الی ۳۶ درجه و ۵۶ دقیقه و ۴۵ ثانیه و طول جغرافیایی ۵۳ درجه و ۲۴ دقیقه و ۵۰ ثانیه الی ۵۴ درجه و ۱ دقیقه و ۲۰ ثانیه و در استان مازندران واقع‌شده است، در مهر ۱۳۹۴ نمونه‌برداری با استفاده از ظروف استریل در عمق ۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متری از سطح آب از ۵ ایستگاه جمع‌آوری و به

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:51 +0430 on Sunday May 12th 2019

آزمایشگاه انتقال داده شدند. سپس در آزمایشگاه خالص‌سازی شدند. شناسایی باکتری و تعین گرم آن به‌وسیله آزمایش‌های زیر بوده است:

الف) در این مرحله باکتری‌ها با روش خطی توسط لوپ استریل کشت داده شدند و کلنی‌های مختلف با استفاده از ریخت‌شناسی جداسازی شدند. باکتری‌های جداسازی شده بر سطح لام با گذران از شعله، به ترتیب محلول‌های کریستال ویوله، لوگول، الکل استون و سافرانین برای مدت ۱ دقیقه، ۱ دقیقه، ۵ تا ۷ ثانیه و ۳۰ ثانیه بر روی نمونه ریخته شده و در پایان هر مرحله، سطح نمونه با آب مقطر شسته شد. نمونه‌هایی که در زیر میکروسکوپ به رنگ قرمز مشاهده‌شده بودند به‌عنوان باکتری گرم منفی انتخاب شدند (Bergey et al., 1939).

ب) آزمایش‌های شناسایی تست‌های تشخیصی شامل، حرکت، تولید H_2S، تولید اندول، TSI، متیل رد، وژز-پروسکوئر، آزمایش سیمون سیترات و ژلاتیناز صورت گرفته است (Jayachandra et al., 2012).

برای به‌دست‌آوردن بیومس باکتری منتخب، ابتدا سویه موردنظر را در محیط‌کشت اختصاصی نمک‌دوست‌ها که حاوی محیط نوترینت براث (Broth nutrient) با غلظت نمکی ۱۰ درصد سدیم کلراید و با pH نزدیک به اسیدیته محیط نمونه‌برداری تلقیح شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار با 180 دور در دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. با سانتریفیوژ کردن محیط‌کشت با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه بیومس باکتری به‌دست‌آمد سپس بیومس به‌دست‌آمده به‌وسیله آب دیونیزه (دوبار تقطیر) سه بار شستشو داده شد (Masoumi *et al*., 2016).

برای بررسی اثر اسیدیته و تعیین اسیدیته بهینه، آزمایش در اسیدیته ۴، ۵، ۶، ۷، ۸ و ۹ موردبررسی قرار گرفت. ابتدا برای انجام این آزمایش محلولی حاوی ۶۰۵ سی‌سی آب دیونیزه و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فلز نیترات کادمیوم و در شوری ۱۰ درصد (کلرید سدیم) آماده‌سازی شد. سپس ارلن حاوی ۶۰۰ سی‌سی آب و فلز به ۶ ارلن ۲۵۰ سی‌سی تقسیم شد و اسیدیته هرکدام از ارلن‌ها توسط HCl و NaOH ۰/۱ نرمال بر روی ۴، ۵، ۶، ۷، ۸ و ۹ تنظیم شد و سپس جهت استریل کردن نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شدند. در مرحله بعد بیومس باکتری به نسبت ۱ گرم بر لیتر به ۶ ارلن مذکور افزوده گردید و سپس ارلن‌ها به مدت یک ساعت در انکوباتور شیکردار با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۷۰ دور بر دقیقه قرار گرفتند.

جهت بررسی دمای مؤثر، ۴۰۵ سی‌سی آب دیونیزه و ۱۵۰ گرم بر لیتر فلز نیترات‌کادمیوم با اسیدیته ۸ تهیه شد. بعدازآن با افزودن کلرید سدیم ۱۰ درصد شوری آن تنظیم شد و در مرحله بعد محلول آماده‌شده به ۴ ارلن ۲۵۰ سی‌سی به‌طور مساوی انتقال داده شد. سپس بیومس باکتری به نسبت ۱ گرم بر لیتر به ارلن‌ها افزوده گردید و در دماهای ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت در انکوباتور شیکردار با ۱۷۰ دور بر دقیقه گرمادهی شدند.

جهت بررسی شوری مؤثر، ۴۰۵ سی‌سی آب دیونیزه و ۱۵۰ گرم بر لیتر فلز نیترات‌کادمیوم با اسیدیته ۸ و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد آماده‌سازی شد. بعدازآن محلول آماده‌شده به ۴ ارلن ۲۵۰ سی‌سی به‌طور مساوی انتقال داده شد و سپس در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵ درصد و ۲۰ درصد کلرید سدیم قرار داده شدند. بیومس باکتری به نسبت ۱ گرم بر لیتر به آن افزوده گردید و بعد در شیکر با ۱۷۰ دور بر دقیقه با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت انکوبه شدند (Shirdam *et al*., 2006).

تمامی آزمایش‌های انجام‌شده در این تحقیق با دو تکرار انجام گردید و از تمامی آزمایش‌ها یک نمونه شاهد ۵ سی‌سی بلافاصله بعد از آماده‌سازی محلول‌ها و قبل از در معرض قرار گرفتن تیمار در غلظت موردنظر جدا گردیده و به میزان ۱۰ سی‌سی بعد از پایان هر آزمایش با استفاده از سرنگ جدا گردیدند. سپس تمامی نمونه‌های حاصل، از فیلتر با مش ۰/۲۲ میکرومتر عبور داده شدند و سپس میزان کادمیوم باقیمانده در محلول با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل AA240FS ساخت شرکت Varian آمریکا) با سه تکرار اندازه‌گیری شدند.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:51 +0430 on Sunday May 12th 2019

جهت بررسی گروه‌های عاملی سطح سلول باکتری، ابتدا بیومس خشک باکتری بدون فلز و با حضور فلز کادمیوم موردنیاز است. بیومس باکتری به دو قسمت تقسیم شد. یک بخش جهت به‌دست‌آمدن بیومس باکتری بدون حضور فلز، به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرارگرفته و خشک شد. بخش دیگر به محلولی حاوی آب دیونیزه و فلز کادمیوم اضافه شد و پس از گذشت مدت‌زمان لازم جهت جذب، سانتریفوژ شده و به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و خشک شد. بیومس‌های باکتری (با حضور فلز کادمیوم و بدون حضور فلز کادمیوم) را با پتاسیم برمید خالص و خشک مخلوط کرده و به‌صورت قرص نازک و شفاف درآورده شدند. قرص‌های آماده‌شده جهت شناسایی گروه‌های عاملی با استفاده از دستگاه طیف‌سنج مادون‌قرمز (FT-IR) طیف گیری شدند (Masoumi *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2009).

نتایج

نتایج آزمایش‌های شناسایی و آزمون‌های بیوشیمیایی باکتری منتخب در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: مشخصات مورفولوژی و آزمون بیوشیمیایی باکتری منتخب.

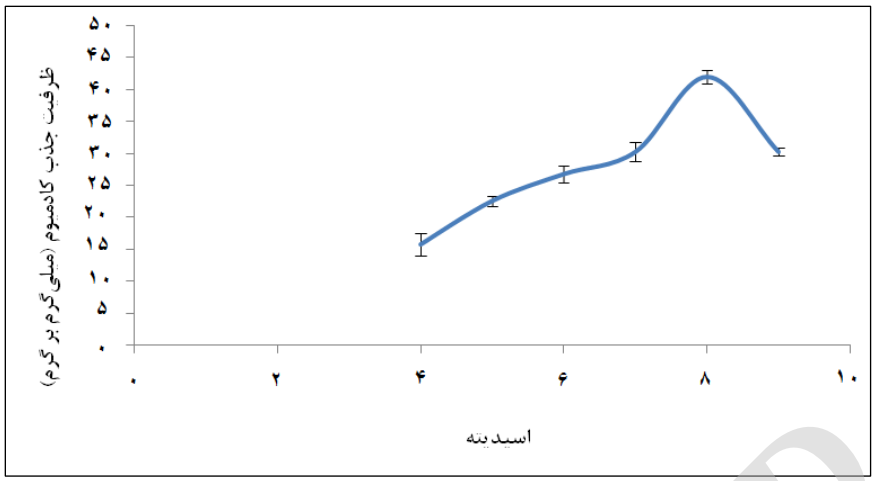
رنگ‌آمیزی گرم	–
شکل سلولی باکتری	میله‌ای
رنگ کلنی	زرد
تولید H_2S	–
حرکت	+
TSI (Triple Sugar Iron)	K/K*
تولید اندول	–
متیل رد	–
وژز– پروسکوئر (Vp)	–**
سیمون سیترات	–
هیدرولیز ژلاتین	–

*Alkaline slant/Alkaline butt (K/K)
i.e Red/Red = glucose, lactose and sucrose non-fermenter
Negative Reaction: A lack of a pink-red color

نتایج حاصل از تأثیر pH بر میزان جذب کادمیوم در شرایط ثابت (دما = ۳۰ درجه سانتی‌گراد، غلظت اولیه کادمیوم = ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، مقدار جاذب= ۱ میلی‌گرم بر لیتر) نشان دادند که کمترین میزان جذب (۱۵/۷۵ میلی‌گرم برگرم) در pH = ۴ می‌باشد که با افزایش pH ظرفیت جذب کادمیوم نیز افزایش یافت به‌طوری‌که در pH = ۸ بیشترین میزان جذب (۴۲ میلی‌گرم برگرم) اتفاق افتاد و بعدازآن در pH = ۹ میزان جذب این فلز توسط باکتری منتخب به ۳۵/۲۴ کاهش یافت (شکل ۱). لذا pH = ۸ به‌عنوان pH بهینه انتخاب گردید.

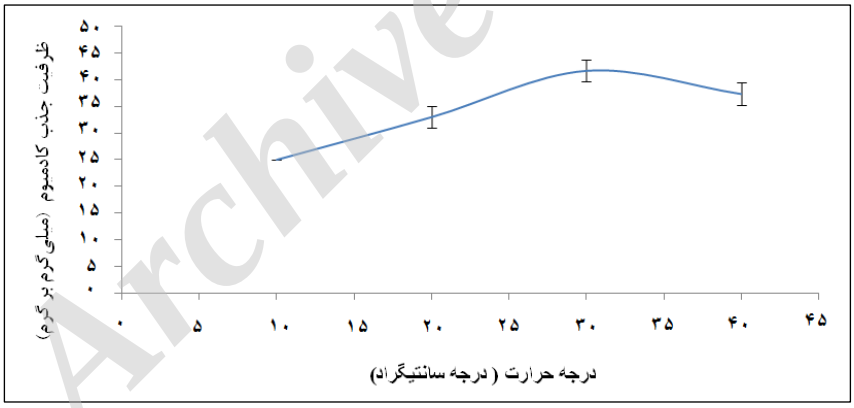
www.SID.ir

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:51 +0430 on Sunday May 12th 2019



شکل ۱: تأثیر تغییرات pH بر ظرفیت جذب کادمیوم توسط باکتری هالوموناس (*Halomonas*) در تالاب میانکاله در مهر ۱۳۹٤.

در بررسی اثر دما بر میزان جذب کادمیوم در محدوده دمایی ۱۰ تا ۴۰ در شرایط ثابت (pH=۸، شوری ۱۰ درصد، غلظت اولیه کادمیوم = ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، مقدار جاذب= ۱ میلی‌گرم بر لیتر) با افزایش دما از ۱۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد میزان جذب از ۲۴/۸۶ به ۴۱/۶۶ میلی‌گرم برگرم افزایش یافت و سپس در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد میزان جذب به ۳۷/۳۰ میلی‌گرم برگرم کاهش یافت (شکل ۲)؛ بنابراین جذب بهینه در دمای ۳۰ سانتی‌گراد می‌باشد.

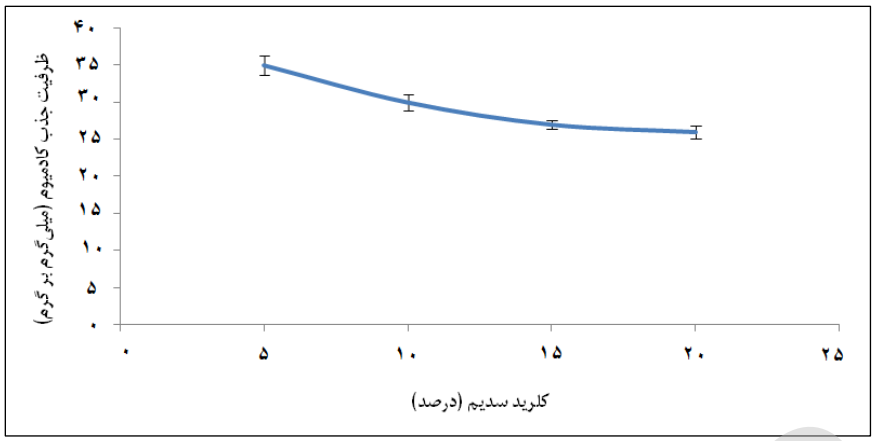


شکل ۲: تأثیر دما بر ظرفیت جذب کادمیوم توسط باکتری هالوموناس (*Halomonas*) در تالاب میانکاله در مهر ۱۳۹٤.

بررسی اثر شوری بر میزان جذب کادمیوم در غلظت‌های مختلف نمک با مقادیر ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد در شرایط ثابت (pH= ۸، دما ۳۰°C، غلظت اولیه کادمیوم= ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، مقدار جاذب= ۱ میلی‌گرم بر لیتر) نشان داد که بیشترین میزان جذب (۳۵ میلی‌گرم برگرم) در نمک ۵ درصد مشاهده شد و بعدازآن روند کاهشی داشته است (شکل ۳).

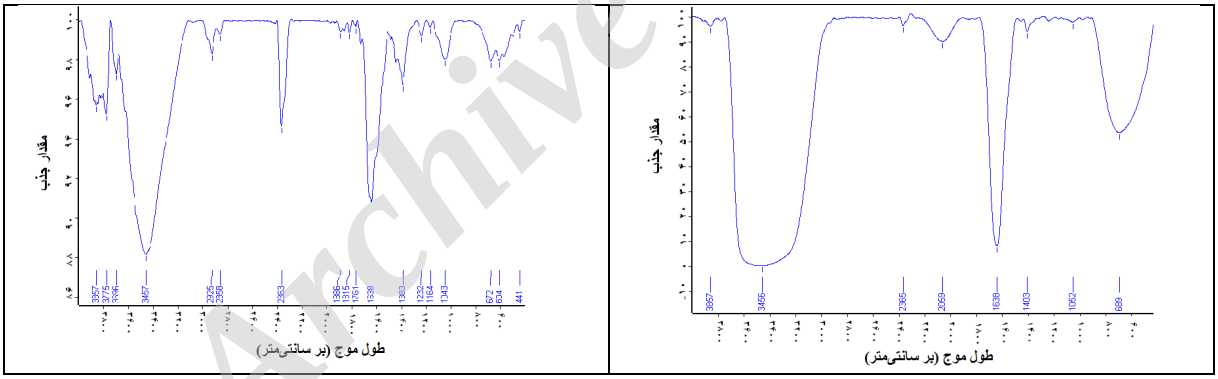
Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:51 +0430 on Sunday May 12th 2019



شکل ۳: تأثیر شوری بر ظرفیت جذب کادمیوم توسط باکتری هالوموناس (*Halomonas*) در تالاب میانکاله در مهر ۱۳۹٤.

گروه‌های عاملی موجود در سطح سلول باکتری منتخب در حضور و عدم حضور فلز کادمیوم در محدوده فرکانس ۴۰۰۰ الی ۴۰۰ cm^{-1} توسط FT-IR شناسایی گردید (شکل ۴). تغییر شدت در پیک جذب در طول‌موج‌های ۳۸۵۷، ۳۷۷۵ و ۳۶۹۶ cm^{-1} وجود دارد. همچنین باندهای کششی بین طول‌موج‌های ۲۷۰۰ تا ۲۹۵۰ cm^{-1} نیز مشاهده گردید. باند کششی در نواحی ۳۴۵۷ و ۲۳۶۵ cm^{-1} و پیک جذبی در طول‌موج‌های ۱۶۳۸، ۱۷۶۱ و ۱۸۱۵ cm^{-1} مشاهده گردید. در طول‌موج‌های ۱۰۴۳، ۱۱۶۴ و ۱۲۳۲ cm^{-1} باندهای خمشی وجود دارد (شکل ۴).



ب الف

شکل ٤: طیف‌سنجی FT-IR باکتری هالوموناس الف) عدم حضور کادمیوم ب) در حضور کادمیوم توسط باکتری هالوموناس (*Halomonas*) در تالاب میانکاله در مهر ۱۳۹٤.

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه بسیاری از محققان درصدد یافتن روش‌های ارزان‌قیمت و مناسب به‌منظور تصفیه پساب‌ها از فلزات سمی و سنگین ازجمله کادمیوم می‌باشند تا جایگزین روش‌های پرهزینه و رایج معمولی گردد. به‌طورکلی باکتری‌ها دارای این توانایی می‌باشند، باکتری موردمطالعه در این تحقیق نیز از این فرایند مستثنی نمی‌باشد، عموماً باکتری‌های گرم منفی دارای پوشش سلولی ویژه‌تری در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:51 +0430 on Sunday May 12th 2019

می‌باشند به‌طوری‌که دارای غشای مضاعف خارجی بوده که دارای لیپوپلی‌ساکارید (Lipopolysaccharides) است و این لایه دارای گروه‌های فعالی نظیر کربوکسیل، هیدروکسیل و آمین می‌باشند و این گروه‌ها به دلیل بار منفی که دارند در جذب کاتیون‌های فلزی از محیط‌های آبی بسیار مؤثر می‌باشند (Mejare and Bulow, 2001; Chang *et al*.,1997). مطالعات نشان دادند که فاکتورهایی ازجمله pH، شوری و دما نقش مهمی در جذب زیستی فلزات ایفاء می‌کنند، اگرچه نوع فلز و نوع باکتری نیز در میزان جذب زیستی مؤثر هستند (Huang and Liu, 2013; Kulkarni *et al*., 2014).

pH یکی از مؤثرترین فاکتورها در جذب فلزات بر سطح بیوجاذب‌ها است (Huang and Liu, 2013). تحقیق حاضر نشان داد که pH=۸ به‌عنوان pH بهینه جذب فلز کادمیوم توسط این باکتری هالوموناس می‌باشد و با افزایش pH از ۴ به ۸، میزان جذب کادمیوم ۱۶۷٪ افزایش یافت و در pH بالاتر از ۸ میزان جذب دوباره کاهش یافت. این نتایج بامطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۴ بر روی جذب کادمیوم توسط باکتری هالوموناس صورت گرفت که pH بهینه برای فلز کادمیوم ۸ بیان شد مطابقت دارد (Rajesh *et al*., 2014). در pH های اسیدی به دلیل افزایش غلظت H^+ محیط، رقابتی بین این پروتون و یون‌های Cd^{2+} برای جذب شدن بر روی جاذب وجود دارد و باعث کاهش میزان جذب می‌گردد. با افزایش pH بار منفی بیشتری در سطح باکتری شارژ می‌شود که سبب جذب کاتیون‌های فلزی بیشتری می‌شود. دلیل دیگر افزایش جذب با افزایش pH این است که گونه هیدرولیز شده تعداد هیدروژن کمتری دارد، لذا انرژی کمتری جهت حذف یا جابجایی مولکول‌های هیدارته آب برای اتصال به سطح باکتری صرف می‌شود (Hawari and Mulligan, 2006; Kulkarni *et al*., 2014).

همچنین فلزات سنگین به دلیل حلالیت پایین در محیط‌های قلیایی به‌صورت هیدروکسید فلز رسوب می‌کنند و درنتیجه سبب کاهش جذب می‌شوند (Srivastava *et al*., 2006; Limcharoensuk *et al*., 2015; Kulkarni *et al*., 2014). بنابراین در این تحقیقpH بالای ۸ محلول فلز کادمیوم سبب تشکیل کمپلکس‌های هیدروکسید کادمیوم می‌شود که با جایگاه‌های فعال رقابت می‌کنند.

دما فاکتور دیگری است که بر میزان جذب فلزات توسط بیوجاذب‌ها مؤثر است (Barros *et al*., 2007). در تحقیق حاضر با افزایش دما از ۱۰ به ۳۰ درجه سانتی‌گراد میزان جذب ۶۷ درصد افزایش پیدا کرد که این امر می‌تواند به دلیل حرکت و برخورد بیشتر و سریع‌تر مولکول‌ها باشد که در افزایش جذب نقش دارد اما با افزایش دما از ۳۰ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد میزان جذب کاهش پیدا می‌کند که می‌تواند در اثر تغییر شکل فضایی محل‌های جذب در ساختار باکتری در اثر حرارت باشد (Mameri *et al*., 1999). نتایج به‌دست‌آمده در تحقیق حاضر با نتایج به‌دست‌آمده توسط پژوهشگران مصری که بر روی جذب زیستی فلز کادمیوم توسط باکتری جداسازی شده از دریای سرخ انجام دادند و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد را به‌عنوان بهینه جذب انتخاب کردند مطابقت دارد (Moselhy *et al*., 2013). اغلب مطالعات گذشته دما بهینه برای جذب فلزات توسط باکتری‌ها را ۳۰ درجه سانتی‌گراد انتخاب کردند شاید به دلیل اینکه تولید و تکثیر باکتری در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد آسان‌تر است (Tabaraki *et al*., 2013; Kulkarni *et al*., 2014; Masoumi *et al*., 2016).

در تحقیق حاضر با افزایش شوری از ۵ به ۲۰ درصد میزان جذب فلز کادمیوم توسط باکتری منتخب ۳۵ درصد افزایش یافت. در تطبیق با یافته‌های تحقیق حاضر، آموزگار و همکاران (۲۰۱۲) مشاهده کردند باکتری هالوموناس قادر به میزان جذب بالایی از فلز کادمیوم در نمک ۵ درصد است. کاهش جذب با افزایش شوری می‌تواند به دلیل رقابت یون‌های Na^+ با Cd^{2+} در جذب شدن به جایگاه‌هایی در سطح دیواره سلولی باکتری باشد (Amoozegar *et al*., 2012).

بررسی نتایج طیف‌سنجی مادون‌قرمز سویه منتخب در حضور کادمیوم و عدم حضور این فلز، شدت جذب متفاوتی از گروه‌های عاملی مشابه را نشان داد. گروه‌های عاملی آمیدی (NH-)، هیدروکسیل (OH-)، کربونیل (C=O) پلی ساکاریدها که روی لایه پپتیدوگلیکان وجود دارند عمده گروه‌هایی هستند که در اغلب باکتری‌ها سبب واکنش شیمیایی و تبادل یونی بین سلول باکتری با فلزات می‌شوند (Fereidouni *et al*., 2009). یون‌های کادمیوم نشان دادند که اتصال قوی با لیگاندهای سولفیدریل، کربونیل و فسفوریل در دیواره سلول باکتری‌ها دارند (Mishra *et al*., 2010). همچنین یون‌های کادمیوم به دلیل شعاع اتمی نسبتاً بزرگ می‌تواند به‌راحتی با شبکه پلی ساکارید دیواره سلول باکتری متصل

www.SID.ir

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:51 +0430 on Sunday May 12th 2019

گردد (Limcharoensuk *et al.*, 2015). تغییرات در پیک جذب تیز و ضعیف در طول‌موج‌های ۳۸۵۷، ۳۷۷۵ و cm^{-1} ۳۶۹۶ نشان‌دهنده برهمکنش فلز کادمیوم با گروه‌های آمیدی (NH-) است. باند پهن در طول‌موج cm^{-1} ۳۴۵۷ به گروه هیدروکسیل (OH-) که باند کششی است اختصاص دارد. همچنین باندهای متغیر بین ۲۷۰۰ تا ۲۹۵۰ مربوط به باند کششی آلکان (C-H) است. پیک متوسط و قوی در طول‌موج ۱۶۳۸، ۱۷۶۱ و cm^{-1} ۱۸۱۵ مربوط به باند کششی گروه کربونیل (C=O) است که با توجه به تغییر شدت جذب مشاهده‌شده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این گروه در جذب زیستی فلز کادمیوم بسیار مؤثر بوده است. باند خمشی مشاهده‌شده در طول‌موج‌های ۱۰۴۳، ۱۱۶۴ و cm^{-1} ۱۲۳۲ مربوط به گروه (C-H) است که در جذب فلز کادمیوم توسط باکتری هالوموناس نقش چندانی ندارد (Zhou *et al.*, 2009). نتایج آنالیز FT-IR نشان داد که گروه‌های سطحی مؤثر این باکتری در جذب فلز کادمیوم شامل هیدروکسیل، آمید، کربونیل و آلکان بوده است.

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق می‌توان نتیجه‌گیری کرد که باکتری هالوموناس گرم منفی بررسی‌شده در این تحقیق پتانسیل بالایی جهت جذب فلز کادمیوم از محیط‌های آبی دارد. همچنین می‌توان از نتایج به‌دست‌آمده از آزمایش جذب بهینه، نتیجه‌گیری کرد که این باکتری نسبت به اسیدی شدن، دمای بالای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و شوری بالای ۵ درصد آب حساس است؛ بنابراین با افزایش گرمایش جهانی که یکی از چالش‌های مهم زیست‌محیطی امروزه بشمار می‌رود نه‌تنها می‌تواند جذب زیستی این باکتری‌ها را در محیط آبی به خطر اندازد بلکه تنوع زیستی و غنای گونه‌ای آن‌ها را در درازمدت ممکن است با خطر انقراض روبرو کند یا به حداقل کاهش دهد.

منابع

احمدی اسب چین، س.، و جعفری، ن.، ۱۳۹۲. مقایسه جداسازی بیولوژیک فلز کادمیوم از پساب توسط باکتری باسیلوس و جلبک فوکوس سراتوس، فصلنامه علوم و تکنولوژی محیط‌زیست، جلد ۱۵: ۱۱۹-۱۲۶.

بخشی، س.، صعودی، م.، غفوریان، ح.، و احمدی فقیه، م. ا.، ۲۰۰۷. جذب سزیم توسط باکتری‌های هالوفیل و هالوتولورانت و بررسی اثر فاکتورهای مختلف بر روی جذب، مجله پژوهشی علوم پایه دانشگاه اصفهان، جلد ۲۸: ۱۵-۳۰.

Amoozegar, M. A., Ghazanfari, N. and Didari, M., 2012. Lead and cadmium bioremoval by *Halomonas* sp., an exopolysaccharide-producing halophilic bacterium. Progress in Biological Sciences 2(1): 1-11.

Barros, A. J. M., Prasad, S., Leite, V. D. and Souza, A. G., 2007. Biosorption of heavy metals in upflow sludge columns. Bioresource technology 98(7): 1418-1425.

Bergey, D. H., Breed, R. S., Murray, E. G. D. and Hitchens, A. P., 1939 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 5th ed. The Williams and Wilkins Co., Baltimore.

Chang, J.S., Law, R. and Chang, C. C.,1997. Biosorption of Lead, Copper and Cadmium by biomass of *Pseudomonas aeruginosa PU21*.Water Research, 31: 1651– 1658.

Hawari, A. H. and Mulligan, CN., 2006. Biosorption of lead(II), cadmium(II), copper(II) and nickel(II) by anaerobic granular biomass. Bioresource Technology 97:692–700.

Huang, W. and Liu, Z. M., 2013. Biosorption of Cd(II)/Pb(II) from aqueous solution by biosurfactant-producing bacteria: Isotherm kinetic characteristic and mechanism studies. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 105: 113– 119.

Hussain, M. A., Salleh, A. and Milow, P., 2009. Characterization of the adsorption of the Lead (II) by the nonliving biomass Spirogyra neglecta (Hasall) Kützing. American Journal of Biochemistry and Biotechnology 5(2): 75-83.

Jayachandra, S. Y., Kumar, A., Merley, D. P. and Sulochana, M. B., 2012. Isolation and characterization of extreme halophilic bacterium *Salinicoccus* sp. JAS4 producing extracellular hydrolytic enzymes. Recent Research in Science and Technology 4(4).

Kulkarni, R.M., Shetty, K.V. and Srinikethan, G., 2014. Cadmium (II) and nickel (II) biosorption by *Bacillus laterosporus* (MTCC 1628). Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers 45: 1628–1635.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:51 +0430 on Sunday May 12th 2019

Limcharoensuk, T., Sooksawat, N., Sumarnrote, A., Awutpet, T., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P. and Auesukaree, C., 2015. Bioaccumulation and biosorption of Cd^{+2} and Zn^{+2} by bacteria isolated from a zinc mine in Thailand**.** Ecotoxicology and Environmental Safety 122:322–330.

Mameri, N., Boudries, N., Addour, L., Belhocine, D., Lounici, H., Grib, H. and Pauss, A., 1999. Batch zinc biosorption by a bacterial nonliving Streptomyces rimosus biomass. Water Research 33(6): 1347-1354.

Masoumi, F., Khadivinia, E., Alidoust, L., Mansourinejad, Z., Shahryari, S., Safaei and M., Akbari Noghabi, K., 2016. Nickel and lead biosorption by *Curtobacterium* sp. FM01, an indigenous bacterium isolated from farmland soils of northeast Iran. Journal of Environmental Chemical Engineering 4(1): 950-957.

Mejáre, M. and Bülow, L., 2001. Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals. Trends in Biotechnology 19(2): 67-73.

Mishra, B., Boyanov, M., Bunker, B. A., Kelly, S.D., Kemner, K.M. and Fein, J. B., 2010. High- and low-affinity binding sites for Cd on the bacterial cell walls of *Bacillus subtilis* and *Shewanella oneidensis.* Geochimistry Cosmochimistry Acta(74): 4219–4233.

Moselhy, K. M., Shaaban, M. T., Ibrahim, H. A. and Abdel-Mongy, A. S., 2013. Biosorption of cadmium by the multiple-metal resistant marine bacterium *Alteromonas macleodii* ASC1 isolated from Hurghada harbour, Red Sea. Archives Des Sciences 66(2).

Mulligan, C. N., Yong, R. N. and Gibbs, B. F., 2001. An evaluation of technologies for the heavy metal remediation of dredged sediments. Journal Hazard Material 85: 145–163.

Nomanbhay, S. M. and Palanisamy, K., 2005. Removal of heavy metal from industrial wastewater using chitosan coated oil palm shell charcoal. Electronic Journal of Biotechnology (8): 43–53.

Rajesh, V., Kumar, A. S. K. and Rajesh, N., 2014. Biosorption of cadmium using a novel bacterium isolated from an electronic industry effluent. Chemical Engineering Journal 235: 176-185.

Sánchez–Porro, C., Martin, S., Mellado, E. and Ventosa, A. 2003. Diversity of moderately halophilic bacteria producing extracellular hydrolytic enzymes. Journal of Applied Microbiology 94(2): 295-300.

Srivastava, V. C., Mall, I. D. and Mishra, I. M., 2009. Competitive adsorption of cadmium (II) and nickel (II) metal ions from aqueous solution onto rice husk ash. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification 48(1): 370-379.

Tabaraki, R., Ahmady-Asbchin, S. and Abdi, O., 2013. Biosorption of Zn(II) from aqueous solutions by *Acinetobacter* sp. isolated from petroleum spilled soil**.** Journal of Environmental Chemical Engineering 1: 604–608**.**

Volesky, B., 2001. Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. Hydrometallurgy 59(2): 203-216.

Wang, J. and Chen, C., 2006. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: a review. Biotechnology Advances 24(5): 427-451

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

Zhou, W., Wang, J., Shen, B., Hou, W. and Zhang, Y., 2009. Biosorption of copper (II) and cadmium (II) by a novel exopolysaccharide secreted from deep-sea mesophilic bacterium. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 72(2): 295-302.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:51 +0430 on Sunday May 12th 2019

Archive of SID

www.SID.ir