

## جداسازی و شناسایی گونه باکتریایی مقاوم به نیکل از رسوبات آلوده خورموسی و مطالعه عملکرد آن در جذب زیستی نیکل

فاطمه شاه علیان<sup>۱\*</sup>، علیرضا صفاهیه<sup>۲</sup>، هاجر آبیاری<sup>۳</sup>

۱- کارشناس ارشد زیست شناسی دریا گرایش آلودگی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر،

۲- استادیار گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر . Safahieh@hotmail.com

۳- کارشناس ارشد زیست شناسی دریا گرایش آلودگی دریا، دانشکده علوم دریایی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، Hajar.abyar@yahoo.com.

تاریخ دریافت: ۹۱/۶/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۲۸

### چکیده

همگام با گسترش فعالیت‌های صنعتی و ازدیاد جمعیت، ورود فلزات سنگین به محیط‌های آبی به مقدار زیادی افزایش یافته است. فلزات سنگین از جمله آلاینده‌های زیست محیطی هستند که به دلیل سمیت و توانایی تجمع زیستی در جانداران می‌توانند منجر به تأثیرات اکولوژیکی زیادی شوند. حذف و جداسازی فلزات از محیط به طرق مختلفی انجام می‌گیرد، اما این راهکارها به دلیل هزینه بر بودن و عدم کاهش غلظت فلزات سنگین به حد استانداردهای مقبول، مناسب نیستند. باکتری‌ها از جمله میکروارگانیسم‌هایی هستند که به دلیل سازگاری با طبیعت و نسبت سطح به حجم بالا برای جذب یون‌های فلزی از محیط مناسب‌اند. در این تحقیق از رسوبات آلوده بندر امام خمینی گونه باکتری مقاوم به نیکل جداسازی و شناسایی شد. نتایج به دست آمده، رشد باکتری در محیط کشت‌های حاوی ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل نشان داد و بر اساس تست‌های بیوشیمیایی باکتری جداسازی شده *Bacillus anthracis* شناسایی شد که از باکتری‌های گرم مثبت بود. با افزایش غلظت نیکل، میزان جذب نوری کاهش یافت و حداکثر میزان جذب نوری (۰/۳۳۱) با باکتری مذکور در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. بیشترین درصد جذب یعنی ۶۸/۶٪، بعد از ۱۵۰ دقیقه در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل به دست آمد. جذب زیستی باکتری *Bacillus anthracis* نشان‌دهنده توانایی این باکتری در حذف نیکل از محیط است. با توجه به عملکرد گونه مورد نظر می‌توان برای کاهش آلودگی‌های فلز نیکل از این باکتری استفاده کرد.

### کلید واژه

جذب زیستی، نیکل، بندر امام خمینی، باکتری *Bacillus anthracis*

### سر آغاز

رشد روز افزون جمعیت، نیاز انسان به تولید مواد اولیه، و یا مواد جدید را افزایش داده است. بدین منظور صنایع گوناگون، توسعه یافته و آلاینده‌هایی از قبیل فلزات سنگین را به محیط زیست طبیعی وارد می‌کنند. از آنجا که پساب این صنایع بیشتر به شکل مایع است ورود این آلاینده‌ها به اکوسیستم‌های آبی از جمله دریاها، تسریع می‌بخشد.

فلزات سنگین از جمله آلاینده‌هایی هستند که در پساب‌های شهری و صنعتی فراوان یافت می‌شوند. پساب صنایع مختلفی از قبیل صنایع فلزکاری، نفت و پتروشیمی از جمله منابع اصلی تخلیه فلزات سنگین به محیط زیست دریا محسوب می‌شوند. این ترکیبات توانایی تجزیه زیستی ندارند و در مقادیر معینی برای بسیاری از

آبزیان سمی هستند. فلزات سنگین ممکن است در اجزای مختلف اکوسیستم و بافت‌های جانداران تجمع یابند و انتقال این آلاینده‌ها در طول زنجیره غذایی ممکن است در پایان به تهدید سلامت انسان منجر می‌شوند (Wang and Chen, 2006; Vieira and Volesky, 2000). نفت خام حاوی مقادیر چشمگیری فلزات سنگین، بویژه سرب، نیکل و وانادیم است. در هنگام بارگیری و استخراج نفت خام معمولاً مقداری از آن خواسته، یا ناخواسته وارد محیط زیست دریا می‌شود که افزون بر آلودگی محیط به موادنفی، غلظت فلزات سنگین از جمله نیکل را نیز افزایش می‌دهد.

بیشتر ترکیبات نفتی وارد شده به محیط زیست دریا فرار بوده یا با میکروارگانیسم‌ها تجزیه می‌شوند ولی فلزات وارد شده به دلیل عدم تجزیه پذیری، ماندگاری طولانی‌تری دارند که با افزایش بار

شدند. برای جداسازی باکتری‌ها از نمونه‌های رسوب ابتدا یک گرم از نمونه رسوب به ۱۰ میلی لیتر محلول نمک ۰/۸۵ درصد اضافه شد و تا  $10^{-3}$  رقیق سازی صورت گرفت. مقدار ۰/۱ میلی لیتر از نمونه‌های رسوب رقیق شده بر محیط کشت نوترینت آگار حاوی غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نیکل (نیترات نیکل) کشت داده شد. سپس محیط‌های تهیه شده به مدت ۴ روز در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد گرماگذاری شدند (Dzairi, et al., 2004).

پس از رشد کلنی‌ها بر روی محیط کشت، کلنی بزرگتر انتخاب و به صورت متوالی بر روی محیط کشت جامد کشت داده شد تا باکتری خالص به دست آید. برای شناسایی دقیق‌تر جنس و گونه باکتری از تست‌های معمول بیوشیمیایی از جمله اکسیداز، کاتالاز، TSI، اوره آز، سیمون سیترات، VP، فنیل آلانین رشد در محیط کشت مک کانکی، تولید اندول، متیل رد، تخمیر لاکتوز، حرکت و د-کربوکسیلاز استفاده شد (Morello, et al., 2002).

### سنجش رشد باکتری

باکتری مقاوم به نیکل جداسازی شده از رسوبات در ۵۰ میلی لیتر محیط کشت LB broth حاوی نیترات نیکل کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد در انکوباتور شیکر دار با دور 150 rpm قرار داده شد. پس از آن ۱۰ میلی لیتر محلول حاوی باکتری برداشت شد و با دور ۷۰۰۰rpm به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی خارج و سپس سلول‌های باکتری با محیط کشت LB broth، سه مرحله شست‌وشو و سانتریفیوژ شد و در آب دو بار تقطیر به حالت سوسپانسیون درآمدند (Nweke, et al., 2007).

به هر یک از ارلن‌های ۲۵۰ میلی لیتری محتوی ۱۰۰ محیط کشت LB broth و غلظت‌های مختلف نیکل (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر) ۳ میلی لیتر از سوسپانسیون تهیه شده اضافه شد و سپس به مدت ۱۲ روز در انکوباتور در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند.

اولین مرحله از سنجش در لحظه صفر یعنی زمانی که باکتری به محیط تلقیح شد، انجام گرفت. جهت اندازه‌گیری ابتدا ۳ میلی لیتر محیط کشت LB broth فاقد باکتری به دستگاه اسپکتروفتومتر داده شد تا دستگاه صفر شود. سپس هر ۲۴ ساعت مقدار ۰/۶ میلی لیتر از محیط کشت حاوی باکتری برداشت و پس از افزودن ۲/۴ میلی لیتر از محیط کشت LB، جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر با

آلودگی در پاره‌ای مناطق، لازم است راهکاری برای حذف آنها از محیط در نظر گرفته شود. نیکل از جمله فلزاتی است که به دلیل کاربرد وسیع آن در صنایع آبکاری فلزات مورد توجه است. یون‌های محلول این فلز در آب شیرین با ترکیب شدن با آب دریا بیشتر به فرم لخته ای تبدیل شده و در رسوبات مصب ته نشین می‌شوند (Alpat, et al., 2010; Congeevaram, et al., 2007).

برای حذف فلز نیکل از محیط‌های آبی روش‌های متعددی از جمله اکسیداسیون و احیا، تبادل یونی و رسوب فلز وجود دارند، اما روش‌های مذکور افزون بر تحمیل هزینه زیاد ممکن است در غلظت‌های پایین فلز کارایی چندانی نداشته باشند (Varnam, et al., 2000; fouad, et al., 2005; Rodríguez, et al., 2006).

جذب زیستی روش کم‌هزینه‌تری است که در آن از توانایی جذب میکروارگانیسم‌ها در حذف آلاینده‌ها از محیط استفاده می‌شود. قارچ‌ها، جلبک‌ها و باکتری‌ها از جمله میکروارگانیسم‌هایی هستند که توانایی تجزیه زیستی داشته و به کرات در مطالعات جذب زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Hussein, et al., 2003; Saifuddin and Raziah, 2007). گونه‌های مختلفی از قبیل *Sporopophticus*، *Pseudomonas*، *Aspergillus*، *Bacillus* و *Phanercheate* به عنوان عوامل مؤثر در جذب نیکل گزارش شده‌اند (Canizares Villanueva, 2000; Rodríguez, et al., 2006; Kumar, et al., 2010).

در این زمینه باکتری‌ها با داشتن سازگاری کم‌هزینه بالاتر و سرعت تکثیر زیاد نسبت به دو گروه قبلی ارجحیت دارند. دیواره سلولی منحصر به فرد این جانداران که بیشتر از جنس لیپوپلی‌ساکارید است حاوی گروه‌های فعال نظیر کربوکسیل، هیدروکسیل و آمین است که باکتری را قادر می‌سازد کاتیون‌های فلزی را از محیط اطراف جذب کند (Mejare and Bullow, 2001; Kelly, 2006; Rodríguez, et al., 2006).

این تحقیق به منظور جداسازی، شناسایی باکتری مقاوم به نیکل از رسوبات آلوده در خور موسی و تعیین توانایی آن در حذف نیکل از محیط صورت گرفته است.

### مواد و روشها

نمونه رسوب با استفاده از گرب از لایه سطحی رسوب آلوده خورموسی برداشت شد و در ظروف شیشه‌ای دردار استریل شده ریخته شد. نمونه‌های رسوب با فلاسک یخ به آزمایشگاه انتقال داده

## جدول شماره (۱): مشخصات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گونه

## باکتری منتخب

رنگ آمیزی گرم	+
آزمایش KOH	-
سلول	میله ای
کاتالاز	+
اکسیداز	+
TSI	-
اوره	-
سیمون سیترات	-
تولید اندول	-
متیل رد	-
VP	-
فنیل آلانین	-
رشد روی محیط مک کانکی	-
تخمیر لاکتوز	-
حرکت	-
د-کربوکسیلاز	+
تشخیص	<i>Bacillus anthracis</i>

## اندازه گیری جذب زیستی

ابتدا محلول ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر نیکل با استفاده از نیترات نیکل و آب دو بار تقطیر تهیه شد. به منظور اندازه گیری قابلیت جذب زیستی باکتری، محلول های فلزی در غلظت های مختلف فلز نیکل (۱۰۰، ۵۰، ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر) تهیه شدند. سپس ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری به محلول ها اضافه شد و به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد روی انکوباتور شیکردار با دور rpm ۱۶۰ قرار داده شد. افزون بر آن محلول بدون باکتری نیز به عنوان نمونه شاهد تهیه شد (Kim, et al., 2006; Green-Ruiz, 2006).

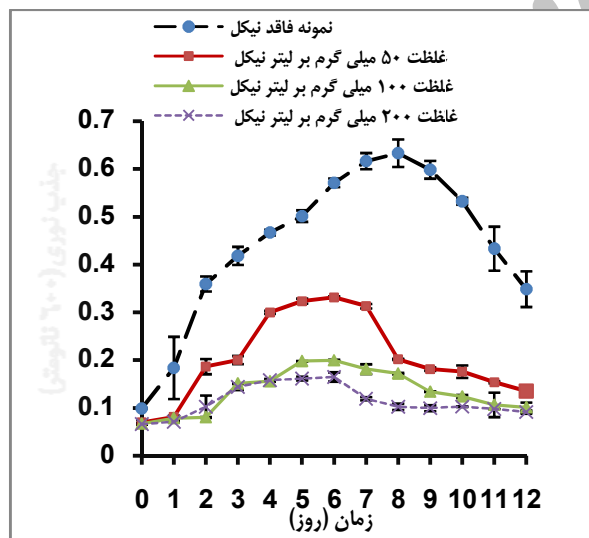
سپس در فاصله های زمانی ۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ دقیقه، ۵ میلی لیتر از هر محلول را برداشته و برای ۱۰ دقیقه در دور rpm ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد و بدین وسیله جداسازی محلول فلزی از توده باکتری صورت گرفت. نمونه ها با استفاده از آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شدند (Kim, et al., 2007; Leung, et al., 2000).

غلظت نیکل باقیمانده در محلول جداسازی شده در فواصل زمانی ۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ دقیقه توسط دستگاه جذب اتمی مدل Savant AAS با ۳ بار تکرار، اندازه گیری و میانگین اعداد به دست آمد (Batch technique<sup>۱</sup>). در پایان غلظت یون نیکل باقیمانده در محلول، از غلظت اولیه این فلزات کم شد تا غلظت فلزات جذب شده با باکتری در هر نمونه به دست آید.

## نتایج

پس از کشت نمونه رسوب بر محیط کشت نوترینت آگار حاوی نیکل، ۳ کلنی باکتری در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر مشاهده شدند که کلنی بزرگ تر برای ادامه مطالعات انتخاب شد. باکتری جداسازی شده از جمله باکتری های میله ای گرم مثبت بوده که پس از انجام تست های بیوشیمیایی با عنوان *Bacillus anthracis* شناسایی شد. نتایج تست های بیوشیمیایی در جدول شماره (۱) نشان داده شده است.

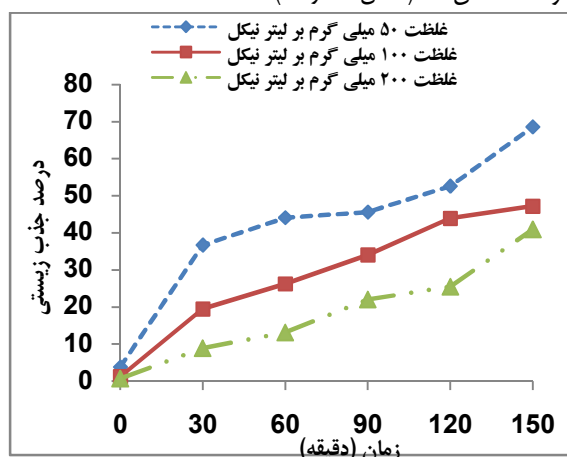
رشد باکتری *B. anthracis* در غلظت های مختلف نیکل در شکل شماره (۱) ذکر شده است.



شکل شماره (۱): منحنی مقایسه رشد باکتری *B. anthracis* در غلظت های مختلف نیکل

منحنی رشد در ۲۴ ساعت اولیه پس از تلقیح در محیط LB Broth، در هر سه غلظت روند تقریباً یکسانی را نشان داد، اما در روزهای بعد باکتری مربوط در غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر در مقایسه با سایر غلظت ها عملکرد بهتری داشت. حداکثر میزان رشد

جذب شد که در مقایسه با سایر غلظت‌ها بیشترین درصد جذب را به خود اختصاص داد (شکل شماره ۳).



شکل شماره (۳): نمودار درصد جذب زیستی نیکل توسط باکتری *B. anthracis* در غلظت‌های مختلف

همچنین با انجام آزمون ANOVA مشخص شد که بین درصد جذب نیکل در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر اختلاف معنی داری وجود دارد ( $P < 0.05$ ). در حالی که بین غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر نیکل اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). با افزایش غلظت نیکل نیز درصد جذب روند کاهشی را نشان داد.

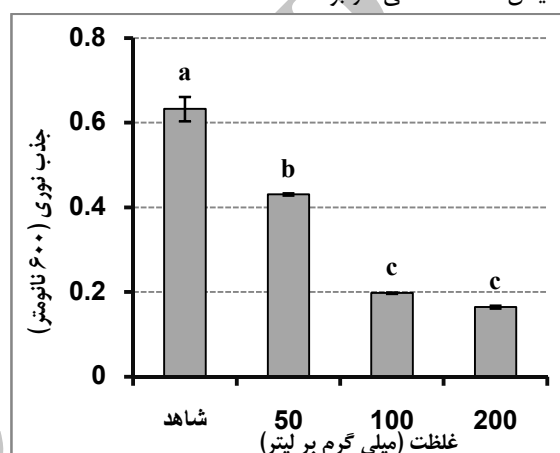
### بحث و نتیجه گیری

مطالعات بسیاری بر روی باسیلوس‌ها انجام شده است که توانایی این باکتری را در جذب فلزات سنگین نشان می‌دهد. باکتری‌های باسیلوس به علت پایداری بالا در اکوسیستم‌های خشکی و دریایی می‌توانند در محیط‌های مختلف پراکنش داشته باشند (Oguntoyinbo, 2007).

هدف از انجام این مطالعه جداسازی گونه باکتریایی بومی منطقه بود که به فلز نیکل مقاوم و قادر به حذف این فلز از محیط است. باکتری *B. anthracis* از رسوبات خور موسی جداسازی و توانایی آن در حذف فلز نیکل از محیط حاوی این فلز بررسی شد.

در همین زمینه Zaidi و Musarrat در سال ۲۰۰۴ سوبه *Bacillus sp. SJ-101* را از خاک‌های آلوده جداسازی کردند. نتایج نشان داد که این باکتری به فلز نیکل مقاوم است. سوبه *Bacillus cereus* جداسازی شده از رسوبات تالاب انزلی نیز به عنوان باکتری مقاوم به نیکل شناسایی شد (shirdam, et al.,).

در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر نیکل به ترتیب ۰/۳۳۱، ۰/۱۹۹، ۰/۱۶۱ بود. نمونه شاهد فاقد نیکل نیز بالاترین میزان جذب نوری ۰/۶۳۳ را نشان داد. بررسی حداکثر رشد باکتری *B. anthracis* در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز نیکل (شکل شماره ۲) نشان داد که با افزایش غلظت فلز در محیط، رشد باکتری کاهش می‌یابد به گونه‌ای که بین حداکثر رشد باکتری در محیط فاقد فلز با حداکثر رشد باکتری در غلظت‌های مختلف نیکل اختلاف معنی دار بود.



شکل شماره (۲): رشد باکتری *B. anthracis* در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر نیکل

این در حالی است که تفاوت محسوسی بین حداکثر رشد باکتری در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). با توجه به جدول شماره (۲)، باکتری جداسازی شده در مدت زمان ۱۵۰ دقیقه میزان نیکل را از ۵۰ میلی گرم بر لیتر به ۱۵/۷±۰/۹۹ میلی گرم بر لیتر کاهش داد.

### جدول شماره (۲): میزان کاهش فلز نیکل در غلظت‌های مختلف

#### *B. anthracis* با

زمان (دقیقه)	۵۰ (mg/l)	۱۰۰ (mg/l)	۲۰۰ (mg/l)
۰	۴۸/۱±۱/۶۹	۹۸/۷۵±۱/۰۶	۱۹۸/۶۵±۰/۶۳۶
۳۰	۳۱/۶۵±۰/۶۳	۸۰/۵۰±۰/۲۸۲	۱۸۲/۲۵±۰/۴۹۴
۶۰	۲۷/۹۵±۰/۹۱۹	۷۳/۷۵±۰/۶۳۶	۱۷۳/۵۸±۰/۶۳۶
۹۰	۲۷/۲۰±۰/۷۰۷	۶۵/۹۵±۰/۶۳۶	۱۵۶±۰/۹۸۹
۱۲۰	۲۳/۷۰±۰/۵۶۵	۵۶/۱۰±۱۳/۱۳	۱۴۹/۱۵±۰/۴۹۴
۱۵۰	۱۵/۷۰±۰/۹۸۹	۵۲/۸±۰/۹۹	۱۱۸/۲±۰/۷۱

همچنین کاهش فلز نیکل در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر به ترتیب ۵۲/۸±۰/۹۹ و ۱۱۸/۲±۰/۷۱ میلی گرم بر لیتر به دست آمد. در ضمن ۶۸/۶ درصد فلز نیکل از محلول فلزی حاوی غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر توسط باکتری *B. anthracis*

بر لیتر پس از مدت زمان ۲۴ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. بیش از ۹۰ درصد جذب توسط غشای خارجی سلول باکتری انجام شد زیرا فلزات به پروتئین‌های لایه خارجی سلول متصل می‌شوند. نتایج نشان داد که این گونه توانایی بالایی در جذب زیستی فلزات سنگین دارد.

در مطالعه کنونی بررسی جذب نیکل توسط باکتری *B. anthracis* نشان داد که این باکتری قادر به حذف ۶/۶۸ درصد این فلز در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر است. همچنین این باکتری در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، میزان نیکل را به ۴۰/۹ درصد کاهش داد. در همین زمینه مطالعه‌ای بر جذب نیکل در حضور دو گونه باکتریایی *Bacillus subtilis* 117S و *Pseudomonas cepacia* 120S انجام شد و نتایج نشان داد که سویه *Bacillus* می‌تواند ۳۵۱/۱ میکروگرم بر میلی لیتر نیکل را از محیط جذب نماید. حذف نیکل طی زمان‌های ۱ تا ۸ ساعت بعد از کشت، افزایش معنی‌داری را نشان داد و پس از ۲۴ ساعت به تعادل رسید. با افزایش غلظت بیومس میزان جذب نیکل افزایش یافت (Abdel-Monem, et al., 2010).

Kumar و همکاران در سال ۲۰۱۰ یادآور شدند که باکتری *Bacillus* sp. قادر به حذف ۵/۵ میلی‌گرم بر لیتر نیکل از محیط در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر است. همچنین Ahmady-Asbchin و Bahrami در سال ۲۰۱۱ توانایی سویه *Bacillus* sp. MG-75 را در جذب نیکل مورد بررسی قرار دادند. سویه مورد نظر در غلظت ۱۴۰ میلی‌گرم بر لیتر، توانست فلز نیکل را به میزان ۷۰ درصد جذب کند. جذب فلزات سنگین با ۸ سویه از باکتری‌های هتروتروفیک هوازی از فاضلاب‌های صنعتی رومانی نیز بررسی شد. بالاترین جذب نیکل ۸۴ درصد گزارش شد (Cismasiu, 2011).

بیشترین میزان حذف نیکل در ۳۰ دقیقه ابتدایی سنجش رخ داد، به گونه‌ای که باکتری در ۳۰ دقیقه نخست توانست میزان فلز را در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب  $31/65 \pm 0/63$ ،  $282/50 \pm 0/80$  و  $182/25 \pm 0/494$  میلی‌گرم بر لیتر کاهش دهد. دلیل آن را می‌توان به این گونه بیان کرد که در ساعت ابتدایی سنجش، سایت‌های فعال بیشتری برای حذف فلز در اختیار باکتری قرار دارد که با گذشت زمان و اشغال شدن این سایت‌ها، میزان جذب ثابت می‌ماند (Abdel-Monem, et al., 2010). با افزایش غلظت فلز در محیط نیز درصد جذب کاهش

همچنین EL-Sersy و EL-Sharouny در سال ۲۰۰۷، چهار سویه دریایی متعلق به جنس باسیلوس را از آبهای آلوده به فلزات سنگین در مصر جداسازی کردند که توانایی بالایی در جذب نیکل داشته‌اند.

در مرحله جداسازی باکتری‌های مقاوم به نیکل از رسوبات خور موسی، غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در نظر گرفته شد. با توجه به عدم آگاهی اولیه از میزان مقاومت باکتری، نتایج حاصل از مطالعات گذشته به عنوان اساس انتخاب غلظت‌های نیکل مد نظر قرار داده شد. در بررسی انجام شده توسط Congeevaram و همکاران (Rodriguez ; 2007) و همکاران (2006) جداسازی باکتری‌ها به ترتیب در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل صورت گرفت.

نتایج حاصل از مرحله جداسازی نیز نشان داد که باکتری‌ها قادر به رشد در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکل هستند بنابراین در مراحل بررسی رشد و جذب زیستی، محدوده‌ای از غلظت‌ها (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) در نظر گرفته شد تا توانایی باکتری به خوبی مشخص شود.

بررسی رشد باکتری *B. anthracis* در غلظت‌های مختلف فلز نیکل نشان داد که این باکتری حداکثر رشد را در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فلز نیکل دارد و با افزایش غلظت فلز در محیط، رشد کاهش می‌یابد. همچنین با افزایش غلظت فلز در محیط، باکتری رشد خود را با تأخیری ۲۴ ساعته آغاز می‌کند. علت وجود تأخیر در ابتدای رشد باکتری و کاهش رشد آن با افزایش غلظت فلز نیکل احتمالاً به دلیل افزایش سمیت فلز و اثر بازدارندگی آن بر رشد باکتری است (Kader, et al., 2007).

با بررسی رشد باکتری *B. anthracis* در ۲۴ ساعت اولیه در هر سه غلظت فاز تأخیر مشاهده شد که احتمالاً باکتری مورد نظر جهت سازگاری با محیط جدید، نیازمند زمان بوده است. با افزایش غلظت فلز نیکل میزان OD کاهش پیدا کرد که نشان دهنده سمیت فلز نیکل و توانایی آن در محدوده کردن رشد باکتری است (Kader, et al., 2007).

در طی مطالعاتی، Kim و همکاران در سال ۲۰۰۷ سویه *Bacillus* sp. CPB4 را از رسوبات آلوده به فلزات سنگین در کره جداسازی و شناسایی کردند. توانایی این باکتری در حضور فلزات سرب، کادمیوم، مس، نیکل، کبالت، منگنز، کرم و روی در دمای ۴۰-۲۰ درجه سانتیگراد و در غلظت‌های ۴۰-۴۰۰ میلی‌گرم

شد که نشان دهنده توانایی بالای آن در جذب نیکل است. این باکتری می‌تواند به عنوان گونه ای مناسب برای کاهش آلودگی فلز نیکل پیشنهاد شود.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق با پشتیبانی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر در بیشتر سمینار پژوهشی دانشجویی انجام شده است. بدین وسیله مراتب تشکر مؤلفان از مسئولان مربوط ابراز می‌شود.

### یادداشت

۱- Batch technique نام پروسه اعمال شده بر نمونه‌های رسوب و کشت باکتری‌ها است و معمولاً زمانی به کار می‌رود که حجم ماده‌ای که به تیمار نیاز دارد، کم باشد.

می‌یابد به گونه‌ای که بیشترین درصد جذب در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر برابر ۶۸/۸ درصد و کمترین مقدار در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر برابر با ۴۰/۹ درصد بود. Hussein و همکاران (2003) معتقدند که در غلظت‌های پایین‌تر، یون‌های فلزی کمتری نسبت به سایت‌های فعال موجود روی دیواره سلولی باکتری وجود دارند از این رو درصد فلز بیشتری در غلظت‌های پایین، جذب سایت‌های اشغال نشده می‌شوند، در حالی که با افزایش غلظت فلز در محیط درصد جذب کاهش می‌یابد.

### نتیجه گیری نهایی

باکتری *B. anthracis* از رسوبات خور موسی جداسازی و رشد آن در غلظت‌های مختلف نیکل مورد بررسی قرار گرفت. در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، بالاترین میزان رشد مشاهده شد اما باکتری جداسازی شده تا غلظت ۲۰۰ میلی‌لیتر نیز قادر به رشد بود. ۶۸/۸ درصد از فلز نیکل با *B. anthracis* از محلول فلزی حذف

### منابع مورد استفاده

- Abdel-Monem, M.O., A.H., Al-Zubeiry, A.A., Al-Gheethi .2010. Biosorption of nickel by *Pseudomonas cepacia* 120S and *Bacillus subtilis* 117S. *Water Science and Technology*, 61(12): 2994-3007.
- Ahmady-Asbchin, S., A.M., Bahrami .2011. Nickel Biosorption by Immobilized Biomass of *Bacillus Sp.* From Aqueous Solution. *Advances in Environmental Biology*, 5(7): 1656-1662.
- Alpat, S., et al. 2010. Effects of biosorption parameter: kinetics, isotherm and thermodynamics for Ni(II) biosorption from aqueous solution by *Circinella sp.* *Electronic Journal of Biotechnology*, 13(5).
- Canizares Villanueva, R.O. 2000. Bioadsorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revered Latinoamericana Microbiology*, 42: 131-143.
- Cismasiu, C.M. 2011. The adaptation of gram-negative bacteria to acidic environmental conditions with implication in heavy metals removal processes. *Romanian Biotechnological Letters*, 16(6): 1-9.
- Congeevaram, S., et al. 2007. Biosorption of chromium and nickel by heavy metal resistant fungal and bacterial isolates. *Journal of Hazardous Materials*, 146: 270-277.
- Dzairi, F.Z., et al. 2004. Bacterial volatilization of mercury by immobilized bacteria in fixed and fluidized bed bioreactors. *Annals of Microbiology*, 54(4): 353-364.
- El-Sersy, N.A., E.E., El-Sharouny .2007. Nickel biosorption by free and immobilized cells of marine *Bacillus subtilis* N10. *Biotechnology*, 6(3): 316-321.
- Fouad, M.Q., B., Uzma, A., Nuzhat .2001. Biosorption of copper by a bacterial biofilm on a flexible polyvinyl chloride conduit. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(9): 4349-4352.
- Green-Ruiz, C. 2006. Mercury(II) removal from aqueous solutions by nonviable *Bacillus sp.* from a tropical estuary. *Bioresource Technology*. 97: 1907-1911.

- Hussein,H.,H.,Moawad,S.,Farage .2003. Isolation and characterization of *Pseudomonas* resistant to heavy metals contaminants. *Arabic Journal Biotechnology*, 7(1): 13-22.
- Kader,J., et al. 2007. Removal of Cr(VI) from aqueous solutions by growing and non-growing populations of environmental bacterial *consortia*. *Global Journal of Environmental Research*, 1(1): 12-17.
- Kelly,J.J. 2006. Bacterial adsorption of aqueous heavy metals: molecular simulations and surface complexation models. Doctor of Philosophy. University of Notre Dame, India, 1-121.
- Kim,S.U., et al. 2007. Characterisation of heavy metal tolerance and biosorption capacity of bacterium strain CPB4 (*Bacillus spp.*). *Water Science and Technology*, 55(1-2): 105-111.
- Kumar,A., B.S.,Bisht, V.D.,Joshi .2010. Biosorption of Heavy Metal s by four acclimated microbial species, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus spp.* and *Aspergillus niger*. *Journal Biology Environmental Sciences*, 4(12): 97-108.
- Leung,W.C., et al. 2000. Removal and recovery of heavy metals by bacteria isolated from activated sludge treating industrial effluents and municipal wastewater. *Water Science and Technology*, 14(12): 233-240.
- Malatova,K. 2005. Isolation and characterization of hydrocarbon degrading bacteria from environmental habitats in western New York State. M.S. Thesis. Institute of Technology Rochester. 2-93.
- Mejare,M., L.,Bulow .2001. Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals. *Trends in Biotechnology*. 19(2): 67-73.
- Morello,J.A., P.A. ,Granato, H.E.,Mizer .2002. Laboratory manual and workbook in microbiology. 7th Edition. 1-304.
- Nweke,C.O., et al. 2007. Toxicity of zinc heterotrophic bacteria from a tropical river sediment. *Applied Ecology Environmental Research*. 5: 123-132.
- Oguntoyinbo,F.A. 2007. Monitoring of marine *Bacillus* diversity among the bacteria community of sea water. *African Journal of Biotechnology*, 6 (2): 163-166.
- Rodríguez,C.E., A., Quesada, E.,Rodríguez .2006. Nickel Biosorption by *Acinetobacter Baumannii* and *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated From industrial Wasterwater. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37: 465-467.
- Saifuddin,N. , A.Z.,Razieh .2007. Removal of heavy metals from industrial effluent using *Saccharomyces Cerevisiae* (Baker yeast) immobilized in chitosan/lignosulphonate matrix. *Applied Sciences Research*, 3(12): 2091-2099.
- Shirdam,R.,A.,Khanafari, A.,Tabatabaee .2006. Cadmium, nickel and vanadium accumulation by three strains of marine bacteria. *Iranian Journal of Biotechnology*. 4(3): 180-187.
- Varnam,A.H. , G.E.,Malcolm .2000. *Environmental Microbiology*. ASM Press, Washington, D.C., USA.
- Vieira,H.S.F., B.,Volesky .2000. Biosorption: a solution to pollution: a review. *International Microbiology*, 3: 17-24.

Wang, J., C., Chen .2006. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: A review. *Biotechnology Advances*, 24: 427–451.

Zaidia, S., j., Musarrata .2004. Characterization and Nickel Sorption Kinetics of a New Metal Hyper-accumulator *Bacillus sp.* *Journal of Environmental Science and Health*, 39(3): 681-691.

Archive of SID