غربالگری لجن فعال و خاک کارخانجات مختلف به منظور یافتن باکتری‌های مقاوم به کادمیوم و تعیین سینتیک جذب فلز

اکرم جباری نژاد کرمانی[۱]، محمد فائزی قاسمی*[۲]، محمدرضا شکیبایی[۳]، آزیتا خسروان[۴]، آرمیتا فرهمند[۵]

۱و ۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده علوم، گروه میکروبیولوژی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۳- دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دانشکده علوم پزشکی ، بخش میکروبشناسی، کرمان، ایران، صندوق پستی:۱۴۱۱۱-۷۶۱۶۷

۴- مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی کرمان، پژوهشکده مواد و متالورژی،کرمان، ایران، صندوق پستی: ۱۱۷-۷۶۳۱۵

۵- مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی کرمان، پژوهشکده علوم محیطی، کرمان، ایران، صندوق پستی: ۱۱۷-۷۶۳۱۵

(*عهده‌دار مکاتبات- faezi_m@yahoo.com)

چکیده

حذف فلزات سمی به وسیله باکتری‌ها نسبت روش‌های شیمیایی برای کم کردن یا از بین بردن آلودگی خاک و محیط زیست مرتبط با آن‌ها ارزان و کارآمدتر است. هدف از این تحقیق جداسازی باکتری مقاوم به فلز کادمیوم، تعیین کمترین غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) و تعیین سینتیک جذب فلز توسط باکتری می‌باشد. نمونه‌گیری از خاک، لجن فعال یا هر دو مورد از شش کارخانه صنعتی صورت پذیرفت. میزان کادمیوم نمونه‌ها اندازه‌گیری و نمونه‌ها به دو روش غنی‌سازی و رقت سازی در محیط کشت مولر هینتون آگار حاوی غلظت‌های مختلفی از سولفات کادمیوم، جهت جداسازی باکتری‌های مقاوم به این فلز کشت داده شدند، MIC تعیین و شناسایی باکتری‌ها به وسیله تست‌های بیوشیمیایی و مورفولوژیکی صورت پذیرفت. سینتیک جذب فلز توسط باکتری تر دارای بیشترین مقاومت به کادمیوم در غلظت‌های mg/L ۳۰، ۴۵ و ۶۰ در محلول کادمیوم اندازه‌گیری گردید. یافته‌ها نشان می‌دهد که فقط یک کارخانه مواد غذایی فاقد فلز کادمیوم در لجن فعال و خاک آن دارای پنج باکتری مقاوم به فلز کادمیوم در خاک و لجن فعال خود بود. روش غنی‌سازی نسبت به روش رقت‌سازی منجر به جداسازی آسان‌تر باکتری‌ها در مدت زمان کوتاه‌تر و مقاومت بیشتر باکتری‌ها در غلظت‌های بالاتر کادمیوم شد. بیشترین مقاومت نسبت به فلز کادمیوم (MIC=6 mM) و توسط *Pseudomonas aeruginosa* مشخص گردید. میزان جذب فلز توسط باکتری در غلظت‌های mg/L۳۰، ۴۵ و ۶۰ به ترتیب برابر با ٪ ۷۶/۰۳، ٪ ۶۳/۶۴ ، ٪ ۳۸/۶۸ می‌باشد. این داده‌ها ازمدل لانگمویر پیروی می‌کنند. می‌توان از این باکتری در فاضلاب آلوده صنایع مختلف بهره جست.

کلمات کلیدی: کادمیوم، مقاومت، لجن فعال، *Pseudomonas aeruginosa*.

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

امروزه در اثر توسعه صنایع و ورود پساب کارخانجات صنعتی به محیط زیست، اکوسیستم اطراف کارخانه‌ها و آب‌های سطحی و زیرزمینی در خطر آلودگی می‌باشند که این امر هم در کوتاه مدت و هم در دراز مدت اثرات زیانباری بر روی موجودات زنده خاک، گیاهان و جانوران موجود در این مناطق برجای می‌گذارد (۱۸). کادمیوم (Cd) یکی از فلزات سنگین موجود در محیط زیست و یکی از سمی‌ترین فلزات سنگین عامل آلودگی آب است و توجهات زیادی را از جانب زیست شناسان به خود معطوف می‌کند. زیرا کادمیوم نهایتاً به بافت‌های انسان و حیوانات می‌رسد و در آن‌جا انباشته می‌شود (۱۱، ۱۳، ۱۹و ۲۱). این فلز به طور گسترده‌ای در آبکاری فلزات، حفاظت در برابر فساد تدریجی و محکم سازی پلاستیک در صنعت مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۴). همچنین کادمیوم در روکش فلز، باتری‌های نیکل – کادمیوم، کود فسفات، معدن، رنگدانه‌ها، تثبیت کننده‌ها، آلیاژ صنایع و لجن فاضلاب کاربرد دارد (۱۵). کادمیوم می‌تواند از طریق گیاهان، مواد دودی و رژیم غذایی وارد زنجیره غذایی انسان شود (۶و۱۱). کادمیوم کارسینوژن، امبریوتو-کسیک، تراتوژن و موتاژن است (۲۲). تاثیرات مهم کادمیوم اختلالات حاد و مزمنی مانند بیماری itai-itai ، تخریب کلیه، نفخ، آتروفی بیضه‌ای و فشار خون است (۱۵). روش‌های مرسوم درمان نظیر ته‌نشینی مواد شیمیایی، تعویض یون و جذب سطحی در حضور فلز سنگین با تراکم کمتر از mgL^{-1} ۱۰۰۰ تاثیر کم و هزینه زیادی در پی دارند (۱۲، ۱۷). توان بالقوه استفاده از میکروارگانیسم‌ها در درمان آب‌های زائد آلوده به فلزات سنگین حائز اهمیت است. در دهه اخیر، انواع مختلف موجودات زنده نظیر باکتری‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها با هدف شناسایی جذب کننده‌های زیستی کارآمد دفع فلز به طور گسترده مشاهده و مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (۸، ۱۳و ۲۵). شکیبایی و همکاران در سال ۲۰۰۸ با استفاده از باکتری‌های مقاوم به فلز مس جداسازی شده از پساب آلوده به این فلز و جهش‌زایی در آن موفق به حذف آن از پساب شدند (۳). حذف بیولوژیک فلزات سنگین کادمیم، نیکل و سرب در مخلوط سه تایی از فاضلاب کارخانه ها با استفاده از قارچ *Aspergillus niger* توسط امینی و همکاران (۱۳۸۷) صورت پذیرفت (۱). کفیل‌زاده و همکاران (۱۳۸۷) موفق به جداسازی و شناسایی باکتری‌های مقاوم به جیوه از آب و رسوبات رودخانه کر شدند (۲). بنابراین ارگانیسم‌ها در هموستازی متعدد فلز و راه حل (استراتژی) سم‌زدایی شامل سیستم انتشار به خارج فعال، تغییرات در نفوذپذیری یون، جذب سطحی و کمپلکس داخل سلولی و خارج سلولی، تغییر شکل زیستی و تقسیم بندی کردن توسعه یافتند (۷، ۸، ۱۸، ۲۴و ۲۵). در این تحقیق جداسازی باکتری‌های مقاوم به فلز کادمیوم، بررسی بالاترین میزان مقاومت به این فلز و تعیین پتانسیل جذب فلز توسط باکتری به منظور حذف آن از فاضلاب‌های آلوده به آن مورد نظر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

نمونه‌های به کار برده شده پساب، خاک یا هر دو مورد از کارخانجات صنعتی ایران (کرمان و تهران) می‌باشد. به این منظور از هر کارخانه به میزان ۵ لیتر نمونه لجن فعال و ۵۰۰ گرم از خاک هر کارخانه (از عمق ۰/۱ متر) در ظروف استریل جمع‌آوری گردید و

Archive of SID

www.SID.ir

بالافاصله به مرکز علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی کرمان منتقل گردید.

اندازه‌گیری pH و تعیین میزان کادمیوم موجود در نمونه‌ها

pH هر کدام از نمونه‌ها به وسیله دستگاه pH متر(Metrohm 691) اندازه‌گیری گردید. مقدار کادمیوم موجود در لجن فعال و خاک مورد نظر قبل از هر گونه آزمایشی به وسیله دستگاه جذب اتمی (Philips PU 9100X) اندازه‌گیری شد. به این منظور ۱۰ میلی لیتر از نمونه لجن فعال را با استفاده از فیلتر ۰/۴۵µm صاف نموده و نمونه خاک مورد استفاده به نسبت ۱ به ۱ با آب مقطر استریل مخلوط و پس از آن نمونه‌ها آنالیز شدند. کادمیوم مورد استفاده در این تحقیق به صورت $3CdSO_4.8H_2O$ با خلوص ٪۹۵ بود.

جداسازی باکتری‌های مقاوم به کادمیوم

به این منظور از دو روش رقت سازی و همچنین از طریق غنی‌سازی و کشت مستقیم در محیط جامد استفاده شد.

روش تهیه رقت (رقت سازی): ابتدا از نمونه مورد نظر (در مورد پساب به میزان ۱ mL و در مورد خاک به میزان ۱ گرم) برداشته و درون یک لوله آزمایش حاوی ۹ mL سرم فیزیولوژی ٪۰/۷۵ استریل ریخته شد. سپس به خوبی هم‌زده و به میزان ۱ mL از سوسپانسیون برداشته و به لوله دوم حاوی ۹ mL سرم فیزیولوژی انتقال داده شد. به این ترتیب رقت در لوله اول 10^{-1}و برای لوله دوم 10^{-2} می‌باشد. رقت سازی تا رقت10^{-8} ادامه یافت. از هر کدام از بالن‌های فوق به میزان ۲۰۰µL بر روی پلیت مولر- هینتون آگار (MHA) حاوی ۰/۵mM $3CdSO_4.8H_2O$ به صورت سطحی کشت داده شد. پلیت‌های فوق در انکوباتور دارای درجه حرارت $30^{\circ}C$ به مدت ۹۶-۲۴ ساعت قرار داده شدند . قابل ذکر است که از نمونه‌های فوق بر روی پلیت فاقد کادمیوم به منظور نمونه کنترل یا شاهد کشت سطحی انجام شد.

روش غنی سازی: در این روش ابتدا ۱ gr (گرم) یا ۱ mL (میلی لیتر) از هر نمونه به ۹ mL (میلی لیتر) محیط کشت Muller-Hinton Broth (MHB) حاوی سولفات کادمیوم اضافه گردید، به صورتی که غلظت نهایی کادمیوم در لوله آزمایش ۰/۵mM شد. سپس کلیه لوله‌های آزمایش به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه (Shaker incubator) شدند. پس از ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری، ۲۰۰ µL از محیط حاوی باکتری‌های رشد یافته، بر روی محیط کشت مولر- هینتون آگار به وسیله گلاس اسپرید کشت سطحی داده و به مدت ۷۲-۲۴ ساعت در دمای $30^{\circ}c$ انکوبه شدند. پس از گذشت این مدت زمان پلیت‌های فوق مورد بررسی قرار گرفتند.

خالص‌سازی باکتری‌ها

پس از طی این مدت زمان از هر کدام از باکتری‌های موجود بر روی پلیت مولر-هینتون آگار کشت استریک (streak) به صورت سه شعله انجام داده و به این ترتیب باکتری‌ها را خالص گردید. سپس این باکتری‌ها را بر روی غلظت‌های متفاوتی از کادمیوم و بر روی محیط کشت مولر- هینتون آگار کشت داده شد تا در نهایت، تنها باکتری‌هایی که غلظت بالایی از

Archive of SID

www.SID.ir

کادمیوم را تحمل می‌کنند، حاصل شود. ۲۵۰ میلی لیتر محلول استوک ۰/۰۵M از نمک فلز ($3CdSO_4.8H_2O$) در آب مقطر استریل برای به دست آوردن غلظت‌های مختلفی از محلول کادمیوم تهیه گردید. غلظت‌های بعدی به ترتیب ۱-۷mM Cd^{2+} بودند. آن‌گاه هر یک از باکتری‌های فوق را در محیط مولر- هینتون براث کشت داده شد. باکتری‌ها را جهت استفاده در مراحل بعد فریز و ذخیره کردیم. جهت ذخیره سازی یک لوپ از هر کدام از باکتری‌های به دست آمده، در ۱ mL مولر - هینتون براث استریل حاوی ٪۴۰ گلیسرول در اپندورف ۱/۵ mL وارد شد و به خوبی هم زده و در فریزر ۷۰°C- نگه‌داری شد.

شناسایی باکتری‌های جداسازی شده

شناسایی باکتری های جداسازی شده که دارای بالاترین مقاومت به کادمیوم بودند، با استفاده از تستهای متداول بیوشیمیایی مطابق با کتاب Bergey`s Manual of Systematic Bacteriology و فیزیولوژیکی انجام گرفتند. قابل ذکر است که باکتری‌های مقاوم به کادمیوم در حد جنس و باکتری دارای بیشترین مقاومت به کادمیوم در حد جنس و گونه شناسایی شدند.

جذب فلز کادمیوم توسط باکتری های مقاوم به فلز

ابتدا محلول کادمیوم با سه غلظت ۳۰، ۴۵ mg/L و ۶۰ تهیه گردید. آن‌گاه ۶۰ میلی‌لیتر از محلول کادمیوم در ارلن مایر ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و pH اولیه (pH=۶) و دمای اولیه (۲۴° C) اندازه‌گیری گردید. سپس ۰/۵ گرم باکتری‌تر را به محلول فوق افزوده و ارلن مایر بر روی استایرر (۱۰۰ rpm) قرار گرفت. به منظور دستیابی به زمان تماسی مناسب از نظر اقتصادی و درصد حذف یون فلز، زمان‌های تماس مختلفی مد نظر قرار گرفت که عبارتند از: ۰ تا ۲۰ دقیقه اول هر ۵ دقیقه یکبار و سپس زمان ۳۰ و در نهایت بعد از ۳۰ دقیقه هر ۳۰ دقیقه یکبار تا زمان ۳۰۰ دقیقه از ابتدای آزمایش و پس از نمونه‌برداری، نمونه‌ها سانتریفوژ شدند (۱۰rpm،۱۰۰۰ دقیقه) و رسوب از محلول رویی جدا گردید و به وسیله سرم فیزیولوژی (٪۰/۷۵) شستشو و مجدداً سانتریفوژ شد. رسوب به وسیله اسید نیتریک غلیظ هضم اسیدی شد، به وسیله دستگاه جذب اتمی رسوب هضم شده و محلول رویی آنالیز شدند. با استفاده از برنامه excel مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

فقط یکی از کارخانه‌ها (کارخانه مواد غذایی) فاقد فلز کادمیوم در لجن فعال و خاک خود، دارای باکتری‌های مقاوم به این فلز بود. هم خاک و هم پساب این کارخانه باکتری‌های مقاوم به این فلز را دارا بودند ولی مقاومت به فلز کادمیوم در باکتری‌های جداسازی شده از پساب این کارخانه نسبت به خاک آن بیشتر بود و pH پساب فوق در حدود ۸ بود.

روش غنی سازی اولیه نسبت به روش رقت‌سازی منجر به جداسازی آسان‌تر باکتری‌ها در مدت زمان کوتاه‌تر و همچنین مقاومت بیشتر باکتری‌ها در زمان قرار گرفتن آن‌ها در غلظت‌های بالاتر کادمیوم شد. چندین باکتری مقاوم به کادمیوم مزوفیل گرم مثبت و گرم منفی جداسازی شدند. اکثر باکتری‌های جداسازی شده به دسته باکتری‌های گرم منفی غیر تخمیرکننده

Archive of SID

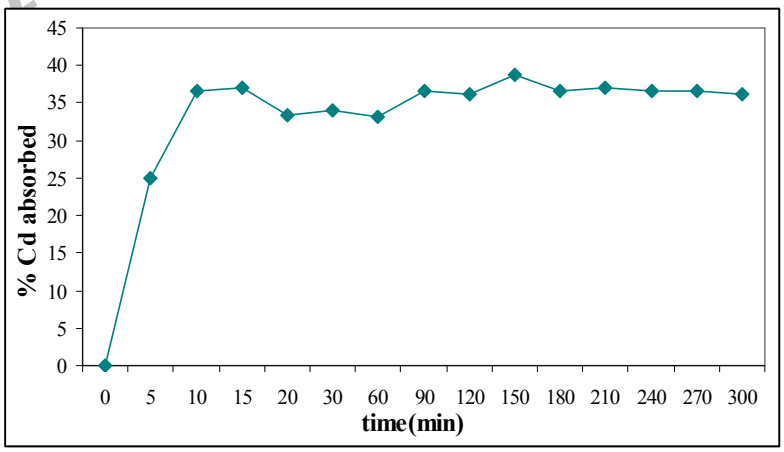
www.SID.ir

سودوموناس تعلق داشتند (۴ ایزوله). یک باکتری کوکوس گرم مثبت نیز قادر به رشد در قادر به رشد در غلظت بالای Cd^{2+} بود، اما در تلقیح باکتری بر روی محیط کشت حاوی غلظت کادمیوم بالاتر از ۲mM قادر به رشد نبود و در نتیجه در طی روند این تحقیق حذف شد. بالاترین میزان MIC در بین باکتری‌های جداسازی شده از خاک برابر با ۳/۵ mM و برای باکتری‌های جداسازی شده از لجن فعال ۶mM بود (جدول ۱).

جدول ۱: کمترین غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) پنج باکتری سودوموناس جداسازی شده از خاک و لجن فعال در محیط کشت مولر- هینتون آگار حاوی سولفات کادمیوم

***Pseudomonas* isolate**	**Source**	**MIC (mM)**
1	Activated Sludge	6
2	Soil	3.5
3	Activated Sludge	3.5
4	Soil	2.5
5	Activated Sludge	2

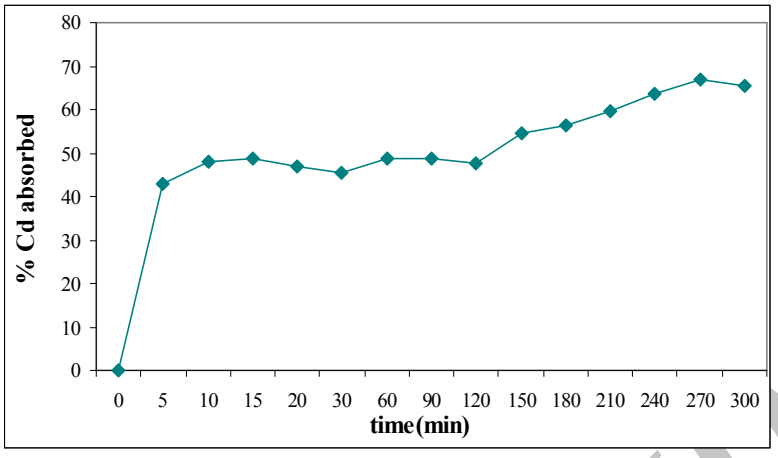
Pseudomonas aeruginosa که در این تحقیق بیشترین مقاومت نسبت به فلز کادمیوم را داشت، به عنوان گزینه مطلوب جهت انجام آزمایشات سینتیک جذب فلز توسط باکتری به کار برده شد. شکل ۱، ۲ و ۳ مقایسه جذب Cd^{2+} به وسیله *Pseudomonas aeruginosa* (به صورت باکتری‌تر) برای غلظت‌های ۳۰، ۴۵ و ۶۰ mg/L محلول کادمیوم را مقایسه می‌کند. بیشترین درصد جذب فلز توسط باکتری در غلظت ۳۰ mg/L (۷۲/۹۳٪) بوده است. در غلظت‌های ۴۵ mg/L و ۶۰ درصد جذب فلز توسط باکتری به ترتیب برابر با ۶۶/۸۷٪ و ۳۸/۶۸٪ می‌باشد. در همه غلظت‌های کادمیوم میزان جذب در طی ۱۵ دقیقه اول آزمایش بسیار سریع بود.



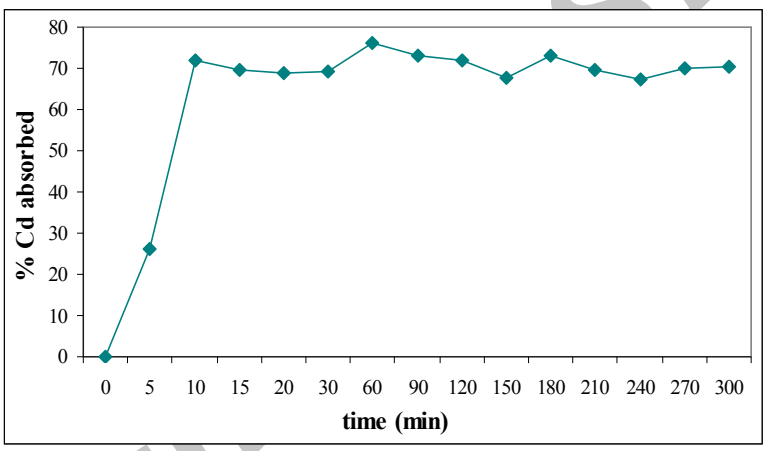
شکل ۱: درصد جذب کادمیوم توسط باکتری‌های *Pseudomonas aeruginosa* در ۶۰ppm سولفات کادمیوم

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۲: درصد جذب کادمیوم توسط باکتری‌های *Pseudomonas aeruginosa* در ۴۵ppm سولفات کادمیوم

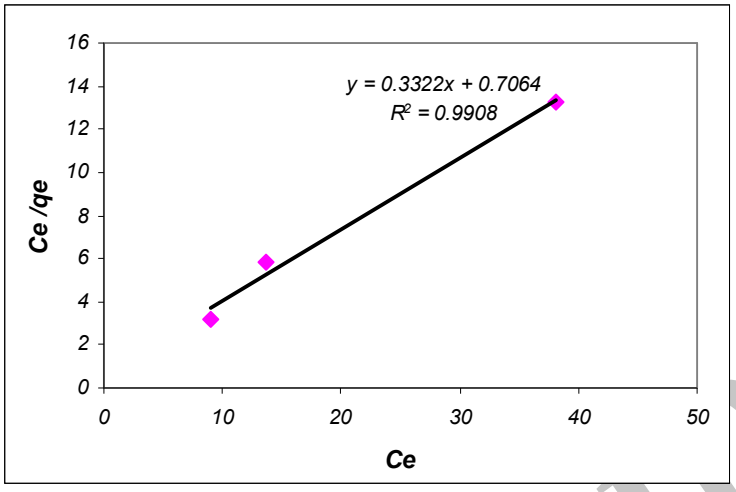


شکل ۳: درصد جذب کادمیوم توسط باکتری‌های *Pseudomonas aeruginosa* در ۳۰ppm سولفات کادمیوم

مدل لانگمویر به طور معمول جهت تعیین کمی و مقایسه عملکرد جاذب‌های مختلف زیستی به کار می‌رود. با این وجود، به منظور ارزیابی تناسب مدل مذکور بایستی به فرضیات اساسی توجه داشت. انرژی جذب یکسان بوده و بستگی به مقدار ماده جذب شده روی جاذب ندارد، به عبارتی قابلیت جذب هر جایگاه فعال، یکسان و حضور ماده جذب شده در هر جایگاه تأثیری در دیگری ندارد، پیوندهای جذب برگشت پذیرند و ماده جذب شده به صورت یک لایه به ضخامت یک مولکول می‌باشد و جذب یک لایه‌ای است. با توجه به معادله لانگمویر و نتایج به دست آمده در این آزمایش، این نتایج از معادله لانگمویر تبعیت می‌کند. شکل ۴ ایزوترم جذب کادمیوم توسط باکتری را نشان می‌دهد. همچنین جدول ۲ پارامترهای ایزوترم لانگمویر برای Cd^{2+} در این تحقیق را نشان می‌دهد.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۴: نمودار ایزوترم لانگمویر جذب سطحی کادمیوم توسط باکتری *Pseudomonas aeruginosa* (وحشی)

جدول ۲: ضرایب ایزوترم لانگمویر برای Cd^{2+}

Langmuir model for *Pseudomonas aeruginosa*		
q_{max}	k_L	R^2
۳/۰۱	۰/۴۷	۰/۹۹۰۸

بحث

در دهه اخیر، انواع مختلف موجودات زنده نظیر باکتری‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها با هدف شناسایی جذب کننده‌های زیستی کارآمد دفع فلز به طور گسترده مشاهده و مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (۱۱، ۱۴و ۲۳). این ارگانیسم‌ها به طور گسترده‌ای در اکوسیستم‌های آبی و خاکی پراکنده‌اند (۲۲). بررسی‌ها نشان داده است که در اکثر پژوهش‌ها از خاک و آب مناطق آلوده استفاده شده است، زیرا امکان وجود میکروارگانیسمی با توان تجزیه‌کنندگی بالا در این مناطق بیشتر از مناطق غیرآلوده به فلزات سنگین می‌باشد. در این تحقیق از لجن فعال و خاک شش کارخانه صنعتی استفاده شد. باکتری‌های مقاوم به فلز کادمیوم از لجن فعال و خاک یک کارخانه مواد غذایی جداسازی شدند، زیرا لجن فعال کارخانجات صنعتی مورد استفاده در این تحقیق به علت pH بالای ۱۲ فاقد باکتری بودند. لجن فعال یک کارخانه کابل سازی مورد استفاده در این تحقیق نیز pH برابر ۳ و حاوی باکتری‌های مختلف ولی فاقد باکتری مقاوم به کادمیوم بود.

روش غنی سازی نسبت به روش رقت سازی منجر به جداسازی باکتری‌ها در مدت زمان کوتاه‌تری شد. همچنین در این روش باکتری‌ها قادر به مقاومت در برابر میزان کادمیوم بیشتری در محیط کشت خود بودند. کفیل‌زاده و همکاران در سال ۲۰۰۸ با استفاده از روش غنی سازی اولیه (بر اساس روش تغییر یافته Wanger Dobler) قادر به جداسازی باکتری‌های مقاوم به جیوه از آب و رسوبات رودخانه کر شدند (۲).

باکتری‌های مقاوم به کادمیوم جداسازی شده از لجن فعال و خاک ۵ نوع بود که بیشترین مقاومت به کادمیوم توسط باکتری جداسازی شده از لجن فعال

Archive of SID

www.SID.ir

(MIC=6 mM) بود. میزان باکتری جداسازی شده به علت عدم وجود فلز کادمیوم در منابع مورد استفاده نسبت به سایر تحقیقاتی که باکتری از منبع آلوده به فلز جداسازی گردید از لحاظ نوع و تعداد باکتری کمتر می‌باشد.

در تحقیقات Chovanova و همکارانش (۲۰۰۴) از لجن فاضلاب آلوده به فلزات سنگین ۸ باکتری مقاوم به فلز سنگین کادمیوم که عبارتند از:

Pseudomonas putida، *Pseudomonas fluorescens* ، *Klebsiella planticola* ، *Alcaligenes xylosoxidans* ، *Klebsiella planticola* ، *Alcaligenes xylosoxidans*، *Serratia liquefaciens* و *Comamonas testosteroni* جداسازی کردند. آن‌ها از روش غنی سازی (بدون افزودن فلز) و از روش رقت سازی استفاده نمودند (۵). Huang و همکارانش در سال ۲۰۰۵ باکتری‌های مقاوم به دو فلز مس و کادمیوم را از خاک‌های آلوده به فلزات سنگین جداسازی کردند.این باکتری قادر به تحمل ۳ میلی مولار کادمیوم بود. آنها از روش رقت سازی جهت جداسازی باکتری‌های مقاوم به فلز استفاده نمودند (۱۰).

Sinha و همکارش در سال ۲۰۰۹ با مطالعه بر روی *Pseudomonas aeruginosa* KUCD1 مقاومت ۸ mM نسبت به فلز کادمیوم را گزارش دادند (۲۳). Hu و همکارانش در سال ۲۰۰۷ قادر به جداسازی باکتری باسیلوس سرئوس HQ-1 از معدن سرب و روی شدند که قادر به مقاومت در برابر ۱۲ میلی مولار کادمیوم بود. وی و همکارانش از روش رقت سازی توسط سرم فیزیولوژی و کشت بر روی غلظت‌های مختلفی از کلرید کادمیوم استفاده نمودند (۹). در سال ۲۰۰۳ Andreoni و همکارانش موفق به حذف زیستی کادمیوم و روی به وسیله *Pseudomonas putida* B14 جداسازی شده از خاک آلوده به این فلزات شدند (۴). معادلات جذب پایا و داده‌های سینتیک ارزش قابل توجهی برای طراحی مجزا سیستم‌های جذب هستند (۲۶).

سینتیک جذب فلز توسط وزن تر باکتری اندازه‌گیری شد و با استفاده از محلول کادمیوم بدون محیط کشت و مواد مغذی صورت پذیرفت. دمای اولیه ۲۵ ^{o}C و pH اولیه ۶ در نظر گرفته شد. زیرا pH بالای ۸ باعث رسوب کادمیوم می‌شود و هر چه مدت زمان فعالیت باکتری جهت جذب افزایش یابد و زمان تماس باکتری و محلول کادمیوم افزایش یابد، pH بالا می‌رود. به این جهت pH برابر ۶ نگه‌داری شد تا در هنگام افزایش آن در مدت زمان ۵ ساعت رسوب کادمیوم در محلول صورت نگیرد.

نتایج آنالیز نشان می‌دهد که میزان جذب فلز توسط باکتری در ۳۰mg/L بیشترین و در ۶۰mg/L کمترین میزان است. میزان سرعت جذب در ۱۵ دقیقه اول بیشترین مقدار می باشد و پس از مدت زمان ۳۰۰ دقیقه از ابتدای آزمایش روند جذب به حالت تعادل رسید. هر چه میزان غلظت محلول کادمیوم افزایش یافت، مدت زمان رسیدن به حالت تعادل کوتاهتر شد.

در تحقیقات Hu و همکارانش (۲۰۰۷) میزان سینتیک جذب با استفاده از محلول کادمیوم، بدون استفاده از هیچ نوع ماده مغذی و یا محیط کشتی انجام شد. زمان تعادل در حدود ۲۰۰ دقیقه از ابتدای آزمایش بود و بالاترین غلظت به کار برده شده جهت تعیین میزان جذب کادمیوم ۰/۱۰۷ mmol/L بود. وی و همکارانش از باکتری خشک شده در مرحله سینتیک

Archive of SID

www.SID.ir

جذب استفاده نمودند (۷). Raja و همکارانش (۲۰۰۸) جهت تعیین میزان جذب فلز کادمیوم و روی با استفاده از باکتری *Pseudomonas aeruginosa* BC15 و انتقال آن به محیط کشت حاوی فلزات سنگین فوق در زمان‌های معینی نمونه‌برداری کرده و میزان حذف را اندازه‌گیری نمودند. میزان فلز کادمیوم مورد استفاده در این تحقیق برابر با ۳mM بود (۲۰).

با توجه به روند رو به رشد استفاده از فلزات سنگین به خصوص کادمیوم در صنایع مختلف و همچنین جایگزینی موجودات زنده به ویژه باکتری‌ها نسبت به روش‌های شیمیایی به علت هزینه پایین و آلودگی کم آن و همچنین نتایج این تحقیق که نشان دهنده ظرفیت بالای این باکتری در جذب فلز کادمیوم و قدرت تحمل زیاد آن نسبت به این فلز است، می‌توان از این باکتری جهت تصفیه و حذف کادمیوم موجود در فاضلاب‌های آلوده صنایع مختلف استفاده نمود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از جناب آقای مهندس جاوید امینی استاد ارجمند دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان به پاس زحمات و حمایت‌های بی‌دریغشان کمال تشکر را داریم. همچنین از مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی کرمان تشکر به عمل می‌آید.

منابع

۱. امینی، م.، یونسی، ح.ا.، قربانی، ف. و دانشی، ع.، ۱۳۸۷. حذف بیولوژیک فلزات سنگین کادمیم، نیکل و سرب در مخلوط سه تایی از فاضلاب کارخانه‌ها با استفاده از قارچ *Aspergillus niger*. دومین همایش تخصصی محیط زیست.

۲. کفیل‌زاده، ف.؛ میرزایی، ن. و کارگر، م.، ۱۳۸۷. جداسازی و شناسایی باکتری‌های مقاوم به جیوه از آب و رسوبات رودخانه کر. مجله دنیای میکروب‌ها، شماره ۱، سال اول، صفحات ۴۳ تا ۵۰.

۳. شکیبایی، م.ر.، خسروان، آ.، فرهمند، آ. و زارع، س.، ۱۳۸۷. حذف فلزات سنگین مس و روی از پسماندهای صنعتی یکی از کارخانجات صنعتی کرمان توسط باکتری‌های مقاوم جهش‌یافته جذب کننده فلز. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دوره شانزدهم، شماره ۱، صفحات ۲۴-۱۳.

4. Andreoni, M., Colombo, M., Colombo, A., Vecchio, A. and Finoli, C., 2003. Cadmium and zinc removal growing cells of *Pseudomonas putida* strain B14 isolated from a metal-impacted soil. Annals of Microbiology, Vol. 53, pp. 135-148.
5. Chovanova, C., Sladekova, D., Kmet, V., Proksova, M., Harichova, J., Puskarova, A., Polek, B. and Ferianc, P., 2004. Identification and characterization of eight cadmium resistant bacteria isolates from a cadmium-contaminated sewage sludge. Biologia, Bratislava, Vol. 59, No. 6, pp. 817-827.
6. Debeka, R.W. and Mckenzie, A. D., 1992. Total diet study of lead and cadmium in food composites: Preliminary investigations, Journal of AOAC International, Vol. 75, pp. 386-394.
7. Diels, L., De Smet, M., Hooyberghs, L. and Corbisier, P., 1999. Heavy metal Bioremediation of soil. Mol Biotechnol, Vol. 12, No. 2, pp. 149-58.
8. Herrero, R., Lodeiro, P., Rey – Castro, C., Vilarino, T. and Sastre de Vicente, M. E., 2005. Removal of inorganic mercury from aqueous solutions by biomass of the marine macroalga *Cystoseria baccata*. Water Res, Vol. 39, pp. 3199-3210.

Archive of SID

www.SID.ir

9. Hu, Q., Qi, H., Bai, Z., Dou, M., Zeng, J., Zhang, F. and Zhang, H., 2007. Biosorption of cadmium by a Cd^{2+} - hyperresistant *Bacillus cereus* strain HQ-1 newly isolated from a Lead and Zinc mine, World Journal Microbiol Biotechnol, Vol. 23, pp. 971-976.
10. Huang, Q., Chen, W. and Xu, L. 2005. Adsorption of Copper and Cadmium by Cu- and Cd-Resistant Bacteria and Their Composites with Soil Colloids and Kaolinite. *Geomicrobiology Journal*, Vol 22, pp. 227–236.
11. Jeanthan, C. and Prieur, D., 1990. Resistance to heavy metals heterotrophic bacteria island from deep-sea hydrothermal vent polychaete, Alvinella pompejena. Progress in Oceangraphy, Vol. 24, pp. 81-88.
12. Kalcher, K., Kem, W. and Pietsch, R., 1993. Cd and Pb in the smoke of a filter cigarette. The science of total Environment. Vol. 128, pp. 21-35.
13. Kapoor, A. and Viraraghavan, T., 1995. Fungal biosorption: an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters. A review. Bioresour Technol, Vol. 53, pp. 195-206.
14. Lebrun, M., Audurier, A. and Cossart, P., 1994. Plasmid – borne Cd-resistance genes in *listeria monocytogenes* are present on Tn 5422, a novel transposon closely related to Tn 917.Jjournal of Bacterology, Vol. 176, pp. 3049-3061.
15. Leyva, R., 1997. Adsorption of cd^{2+} from aqueous solution on to Activated carbon, Wat. Sci. Tech., Vol. 35, pp. 205-211.
16. Mahvi, A.H. and Diels, L., 2004. Biological removal of cadmium by Alcaligenes eutrophus CH34. International Journal of Environmental Science & Technology, Vol. 3, No. 1, pp. 199-204.
17. Muraleedharan, T.R. and Venkobachar, C., 1990. Mechanism of Biosorption of Copper (II) by *Ganoderma lucidum*. Biotechnol Bioeng, Vol. 26, pp. 265-268.
18. Nies, D. H. and Silver, S., 1999. Microbial heavy metal resistance. Appl Microbial Biotechnol, Vol. 6, pp. 123-9.
19. Pacheco, S.V., Mirando, R. and Cervantes, C., 1995. Inoganic- Ion resistance by bacteria isolated from a Mexico City free way. Antonie van leuwenheek, Vol. 63, pp. 333-337.
20. Raja, C.E., Sasikumar, S. and Selvam, G.S., 2008. Adaptive and cross resistance to cadmium (II) and zinc (II) by *Pseudomonas aeruginosa* BC15. *Biologia,* Vol 63, No 4, pp. 461-465.
21. Ray, S., Pahen, K., Gachhui, R., Chauduri, J. and Mandal, A., 1993. Studies on the mercury voltalizing enzymes in nitrogen – fixing *Beijerinekia mobiles*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, Vol. 9, pp. 184-186.
22. Sanders, C. L., 1986. Toxicological Aspects of Energy Production. Pp.58-162. Macmillian Publishing Company, New York. ISBN 0-02948960-1.
23. Sinha, S. and Kumar Mukherjee, S., 2009. *Pseudomonas aeruginosa* KUCD1, Apossible candidate for cadmium bioremediation. Brazilian Journal of Microbiology, Vol. 40, pp. 655-662.
24. Sultan, E. S., 1999. Isolation and characterization of antibiotic heavy metal resistance. *P. stutzeri* Biometals zool; Vol. 7, pp. 30-40.
25. Vieira, R. H. and Volesky, B., 2000. Biosorption. A solution to pollution. Int Moicrobial, Vol. 3, pp. 17-24.
26. Volesky, B., 2003. Biosorption process simulation tools, *Hydrometallurgy*, Vol 71, pp. 179-190.

Archive of SID

www.SID.ir