

حذف بیولوژیک فلزات کادمیم، نیکل و سرب با استفاده از قارچ *Aspergillus niger*

ملیحه امینی^۱، حبیب اله یونسی^{۲*}، فرشید قربانی^۳، علی دانشی^۴

- ۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور
- ۲- استادیار گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور
- ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور
- ۴- دانشجوی کارشناسی ارشد محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

چکیده

جذب یونهای کادمیم، نیکل و سرب به وسیله قارچ *Aspergillus niger* تحت تأثیر متغیرهای pH اولیه محلول، غلظت اولیه یونهای فلزی و مقدار بیومس در مخلوط سه تایی این فلزات بررسی شدند. آزمایشهای حذف یونهای فلزی در محلولهای آبی انجام پذیرفت. تجمع بیولوژیک سرب، کادمیم و نیکل با قارچ مورد نظر برای ارزیابی توانایی در حذف فلزات سنگین شناسایی شد. محدوده pH اولیه محلول، غلظت یونهای فلزی و مقدار بیومس مورد استفاده برای حذف یونهای فلزی در این تحقیق به ترتیب ۱/۳ تا pH ۸/۷، ۰/۵ تا ۳۷/۵ ppm و ۰/۰۱ تا ۰/۷۵ g/l بودند. نتایج آزمایشهای شرایط مطلوب را در pH=۵، غلظت یونهای فلزی ۱۹ ppm و مقدار بیومس ۰/۳۸ g/l نشان دادند. طبق داده‌های حاصل از مطالعات ناپیوسته، حداکثر ظرفیت جذب بیومس برای حذف یونهای کادمیم ۹۴/۴۷±۲/۱۳ درصد، نیکل ۷۹/۸۱±۱/۱۵ درصد و برای سرب ۹۹/۷۳±۲/۵۸ درصد بودند. براساس این مشاهدات بیوماس غیر زنده *A. niger* جاذبی مناسب برای بازیافت یونهای فلزات سنگین از فاضلاب کارخانه‌هاست.

کلید واژگان: *Aspergillus niger*، کادمیم، نیکل، سرب، جذب بیولوژیک.

۱- مقدمه

خطر محسوب می‌شود [۱] و نیاز به توسعه تکنولوژی‌هایی برای حذف مؤثر یونهای فلزات سنگین از فاضلاب است [۲]. بازیافت این فلزات از پسماند از نظر حفظ سلامتی انسان نیز دارای اهمیت بالایی می‌باشند [۳]. حضور فلزات سنگین در فاضلاب تعدادی از کارخانه‌های شیمیایی مانند تولید خمیر کاغذ، پتروشیمی، پالایشگاه، کودسازی، ساخت استیل و

میکروارگانیسمها نقش مهمی در جذب فلزات سنگین آلاینده فاضلاب دارند و در سالهای اخیر استفاده از جذب بیولوژیک به عنوان یک روش متداول برای حذف فلزات سنگین از فاضلاب بسیار مورد توجه بوده است. حضور فلزات سنگین در پسماند کارخانه‌ها به علت تخلیه بالا در محیط زیست یک

* نویسنده مسؤول مقاله: تلفن: ۰۱۲۲۶۲۵۳۱۰۳-۳، فکس: ۰۱۲۲۶۲۵۳۴۹۹، E.mail: hunesi@modares.ac.ir, hunesi@yahoo.com.

ظرفیت جذب خوب به علت سطح تماس بالا ۳- جذب انتخابی یونهای فلزی ۴- قابلیت اجرا در شرایط محیطی [۹].

بازیافت همزمان یونهای فلزی به وسیله میکروارگانیسم از محلول به صورت دوتایی یا بیشتر دارای اهمیت زیادی می‌باشند که در این حالت ممکن است افزایش، کاهش یا عدم تغییر ظرفیت جذب یونهای فلزی توسط میکروارگانیسم مشاهده شود. مقادیر pH، غلظت یونهای فلزی و مقدار بیومس مورد استفاده، در سرعت جذب و توانایی مطلوب حذف یونهای فلزی مؤثرند. با توجه به این که فلزات سنگین در پسابهای صنعتی به صورت مخلوط و همراه با هم حضور دارند، بنابراین بررسی میزان حذف این فلزات با استفاده از روشهای بیولوژیک که دارای حداقل آسیب را بر طبیعت دارند، بسیار مورد توجه می‌باشد تا بتوان با استفاده از نتایج حاصل از آن به حفظ محیط زیست پرداخت. هدف از این پژوهش مطالعه میزان حذف یونهای فلزی سرب، کادمیم و نیکل در مخلوط سه تایی این فلزات تحت تأثیر pH، غلظت فلز سنگین و غلظت بیومس در فاضلاب صنایع با بیومس غیر زنده *A. niger* و پس از آن تعیین شرایط مطلوب برای بازیافت یونهای فلزی بوده است.

۲- مواد و روش کار

۲-۱- میکروارگانیسم

قارچ (*Aspergillus niger* (DSMZ۸۲۳) از بانک میکروبی آلمان^۱ خریداری شد. نمونه مورد نظر به صورت یخ خشک^۲ بود و برای استفاده در محیط آزمایشگاهی برای آزمایشهای مورد نظر به محیط کشت استریل جامد (PDA)^۳ انتقال داده شد. پس از گذشت زمان مناسب که قارچ به حد مطلوبی از رشد در محیط کشت PDA رسید، نمونه‌ها به یخچال منتقل و در دمای ۴ درجه نگهداری شدند. این محیط کشتها تا ۳ ماه

صنایع خودروسازی اثرات مضر روی عملکرد سیستمهای اصلاح بیولوژیک دارند و به همین دلیل، حذف فلزات سنگین از فاضلاب صنایع به صورت درمان بیولوژیک در سالهای اخیر مورد توجه زیادی قرار گرفته است. مس، روی، سرب، جیوه، کروم، کادمیم، کبالت و نیکل فراوانترین فلزات سنگین یافت شده در فاضلاب صنایعند [۴]. دانشمندان اخیراً استفاده از تعدادی مواد بیولوژیک را برای حذف فلزات سنگین از آب و خاک آلوده پیشنهاد می‌کنند [۵]. روش جذب بیولوژیک به طور قابل ملاحظه‌ای برای حذف فلزات سنگین و کاهش موادشیمیایی آلی از فاضلاب کارخانه‌ها مورد توجه بوده است [۶]. فرآیند جذب به صورت قرارگیری فلزات در جایگاههای خالی سطح سلول طی فرآیندهای فیزیکی یا شیمیایی است. جذب فلزات نامحلول ممکن است به وسیله فعالیت شیمیایی بیومس میکروبی یا بقایای گیاهی مرده اتفاق بیفتد. تجمع بیولوژیک شامل همه فرآیندهای عملی برای بازیافت فلزات سنگین به وسیله سلول میکروارگانیسمها (باکتری، قارچ، جلبک و ...) و تجمع مواد مورد نظر در خارج سلول است [۷]. انواع مختلف بیومس (یا جاذب طبیعی) و خصوصیات جذب تعداد زیادی از آنها به طور وسیعی بررسی شده‌اند. این مواد بیولوژیک حاضر در گروههای عاملی مکانهای موجود در دیواره خارجی سلول برای واکنشهای ترکیب و تعویض یونی می‌باشند [۸]. دیواره سلولی میکروارگانیسم دارای ترکیبات مختلف آلی مانند گروههای کربوکسیلیک، قندها، چربیها، پروتئین و دیگر ترکیباتند و به عنوان ترکیباتی برای جذب یونهای فلزی، باعث ایجاد بار منفی در گروههای عاملی کربوکسیلیک، فسفات و سولفات می‌شوند. سودمندیهای جذب برای حذف یونهای فلزی در مقایسه با روشهای شیمیایی و فیزیکی شامل موارد زیرند: ۱- هزینه کم، در دسترس بودن و امکان استفاده دوباره به عنوان جاذب ۲-

1. Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (GmbH)

2. Freeze dry

3. Potato-dextrose agar

۲-۴- تهیه محلول فلزات سنگین

محلول مادر^{۱۰} فلزات سنگین، محلول ۱۰۰۰ mg/l فلز بود که از نمک نیترات (Merck, Germany) آن فلز به دست آمده بود. در آزمایشهای این تحقیق نمک مورد استفاده برای تهیه محلول فلزات سرب، نیکل و کادمیم به ترتیب نمک نیترات سرب^{۱۱}، کلرید نیکل^{۱۲} و سولفات کادمیم^{۱۳} بودند. در این تحقیق برای تعیین شرایط مطلوب حذف فلزات سنگین از فاضلاب کارخانه‌ها در رابطه با هر یک از ۳ عامل pH، غلظت اولیه فلز سنگین و غلظت بیومس، محدوده ای در نظر گرفته شد که شامل سه آزمایش با متغیر pH ۱/۳، ۵ و ۸/۷؛ سه آزمایش با غلظت اولیه مختلف ۰/۵، ۱۹ و ۳۷/۵ mg/l در محلول برای هر یک از فلزات کادمیم، نیکل و سرب و سه آزمایش با مقدار بیومس متفاوت ۰/۱، ۰/۳۸ و ۰/۷۵ mg/l بودند. در هر یک از این سری آزمایشهای، غیر از عامل متغیر دو عامل دیگر ثابت در نظر گرفته شدند. قابل ذکر است که همه آزمایشات در سه نوبت تکرار شدند و میانگین آنها به عنوان نتیجه نهایی گزارش گردید. پس از انجام آزمایشها، با توجه به میزان ظرفیت جذب فلز، شرایط بهینه یافت شدند تا بتوان از این شرایط برای بازیافت فلزات از پساب کارخانه‌ها استفاده کرد. نمونه‌ها در دستگاه جذب اتمی^{۱۴} آنالیز شدند. برای محاسبه مقدار R که میزان حذف فلز توسط بیومس قارچ است، از معادله (۱) استفاده شد:

$$R = \left(\frac{P_0 - P_e}{P_0} \right) \times 100 \quad (1)$$

در معادله (۱)، R درصد بازیافت فلز توسط بیومس، P_0 غلظت اولیه یون فلزی، mg/l و P_e غلظت نهایی یونهای فلزی است، mg/l. شاخصهای قارچ *A. niger* قبل و بعد از درمان با سود در جدول (۱) آورده شده است.

برای انتقال به محیط کشتهای جدید مناسب هستند و پس از آن باید به محیط کشتهای مشابه جدیدی منتقل شوند.

۲-۲- تهیه محیط کشت مایع برای رشد قارچ

پس از رشد مناسب قارچ در محیط کشت جامد در مرحله بعد محیط کشت مایع تهیه شد. محیط رشد مایع شامل مواد شیمیایی (g/l): ساکارز^۱ ۵۰؛ نیترات آمونیوم^۲ ۲؛ فسفات پتاسیم^۳ ۰/۱۵؛ سولفات منیزیم^۴ ۰/۱۵ بود. pH مناسب برای رشد مطلوب قارچ در محیط رشد مایع ۵/۵ بود که قبل از اتوکلاو تنظیم گردید. برای تنظیم pH، اسیدسولفوریک و سود مورد استفاده قرار گرفتند. کشت از محیط کشت مایع یا جامد اولیه به محیطهای جدید انجام شد و نمونه‌ها به مدت ۵ روز در دمای ۳۰°C در داخل انکوباتور^۵ رشد داده شدند.

۲-۳- تولید بیومس

پس از گذشت مدت زمان ذکر شده (۵ روز) جداسازی قارچ از محیط کشت با فیلتر^۶ انجام شد. این نمونه به مدت ۲۴ ساعت در داخل آون^۷ با دمای ۵۰°C قرار داده شد. پس از گذشت این مدت نمونه کاملاً خرد و آسیاب گردید و از الک با چشمه^۸ ۱۰۰µ عبور داده شد تا پودری کاملاً همگن به دست آمد. سپس قارچ در محلول جوشان ۰/۵ نرمال سود ریخته شد و این مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه جوشانده شد. پس از آن بیومس آماده‌سازی شده با سود در ساترifiوژ^۹ با سرعت ۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شد. برای حذف سود، بیومس دو بار با آب مقطر دیونیزه شستشو داده شد. پس از آن بیومس دوباره خشک، آسیاب و مجدداً از الک با چشمه^۸ ۱۰۰µ عبور داده شد. این پودر آماده برای شروع آزمایشهای مورد نظر بود.

1. Sucrose
2. NH₄NO₃
3. KH₂PO₄
4. MgSO₄
5. Liebherr, Fks2600, Germany
6. Whatman No 42
7. Heraeus, T6060, Germany
8. Mesh
9. JP Selecta, Spain

10. Stock solution
11. PbNO₃
12. NiCl₂
13. CdSO₄
14. Philips, PU9400, USA

جدول ۱ خصوصیات بیومس قارچ با *A. niger*

جزء ترکیب دهنده	قبل از درمان	بعد از درمان
اندازه ذرات، μm	۱۰۰	۱۰۰
رطوبت (درصد)	۷/۸۸	۹/۰۰
وزن ماده خشک (درصد)	۹۸/۷۵	۹۸/۳۵
خاکستر (درصد)	۱/۲۵	۱/۶۵
نیترژن کل (درصد)	۳/۲۳	۲/۷۱
پروتئین (درصد)	۲۰/۲	۱۶/۹۵

۳- نتایج

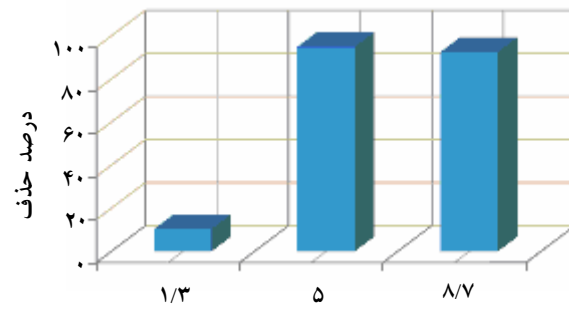
۳-۱- اثر pH اولیه محلول بر میزان جذب فلزات

مقادیر مختلف pH در فاضلاب حاوی فلزات سنگین انتخاب شد و محلولهای در نظر گرفته شده در این تحقیق دارای محدوده ۱/۳ تا ۸/۷ قبل از اضافه شدن جاذب به محیط کشت بودند. همانطوری که شکل (۱) نشان می‌دهد بیشترین ظرفیت جذب در pH ۵ بود. در pH ۱/۳ میزان جذب خیلی کم (کادمیم $10/44 \pm 0/97$ ، نیکل $31/94 \pm 1/12$ و سرب $24/19 \pm 1/05$ درصد) و در pH ۸/۷ نیز مقدار ظرفیت جذب قابل توجه ولی کمتر از مقدار آن در pH ۵ بود. برای *A. niger* جذب مطلوب $95 \pm 1/61$ درصد کادمیم، $79/8 \pm 1/36$ درصد نیکل و $99/7 \pm 1/25$ درصد سرب در pH ۵ به دست آمدند و پس از آن با افزایش pH تا رسیدن به بالاترین محدوده که ۸/۷ است، درصد حذف هر یک از یونهای کادمیم، نیکل و سرب به ترتیب تا مقادیر $92/63 \pm 0/98$ ، $50/87 \pm 1/15$ و $77/19 \pm 1/23$ کاهش یافت. طی آزمایشهایی نیز ثابت شد که جذب سطحی یونهای فلزی روی جاذبهای خاص تحت تأثیر بالای pH می‌باشند.

۳-۲- اثر غلظت اولیه یونهای سرب، نیکل و

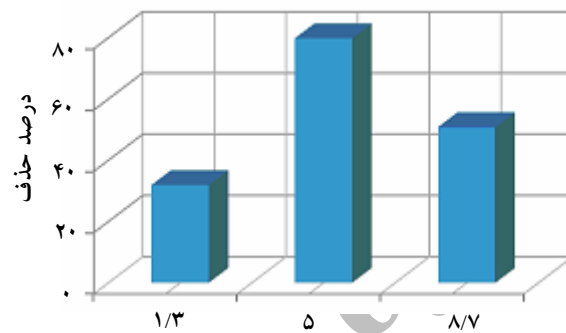
کادمیم بر میزان ظرفیت جذب فلزی

براساس شکل (۲)، ظرفیت بازیافت یونهای فلزی به وسیله بیومس قارچ تحت تأثیر غلظت اولیه یونهای فلزی در محیط کشت بود در محدوده ppm $37/5 - 0/5$ بررسی شد. نتایج نشان دادند که با افزایش غلظت اولیه یونهای فلزی، ظرفیت جذب سطحی نیز تا حدود ۱۹ ppm افزایش یافت و به یک حد تعادلی رسید. به طوری که درصد حذف یونهای فلزی کادمیم از $68 \pm 1/15\%$ به $95 \pm 1/05\%$ ، نیکل از $66/66 \pm 2/1\%$ به $79/8 \pm 0/98\%$ و در مورد سرب از $68/7 \pm 1/55\%$ به مقدار $99/7 \pm 1/23\%$ رسید. پس از آن با افزایش غلظت اولیه یونهای فلزی در محلول، تغییر قابل توجهی در میزان حذف یونهای فلزی صورت نگرفت و این کاهش کم در میزان حذف یونهای فلزی در مورد کادمیم $0/5$ درصد، نیکل حدود ۳ درصد و در رابطه با فلز سرب ۱۳ درصد بود. بنابراین، به منظور دست یابی به میزان مطلوب جذب یونهای فلزات سنگین، لازم است تا در جریانهای آبی مقدار غلظت یونهای فلزی به میزان زیاد رقیق‌سازی نگردد زیرا براساس مشاهدات مقدار فلز جذب شده به ازای واحد جرم بیومس زمانی افزایش می‌یابد که غلظت اولیه یونهای فلزی در محلول بالا رود.



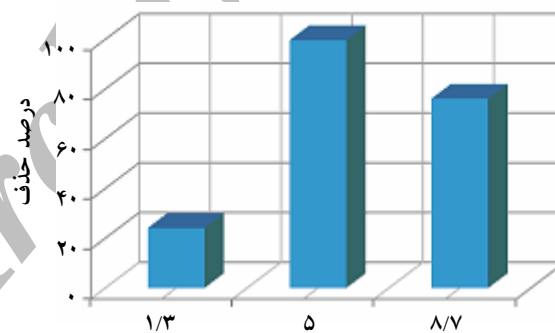
pH اولیه محلول

(الف)



pH اولیه محلول

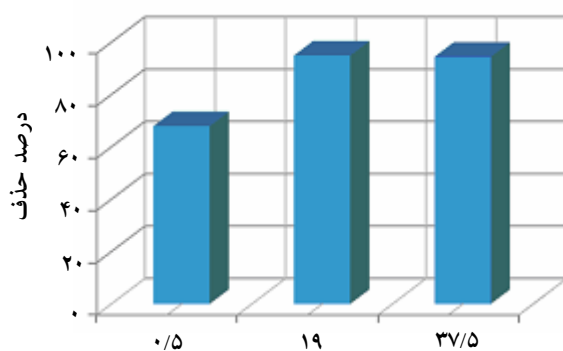
(ب)



pH اولیه محلول

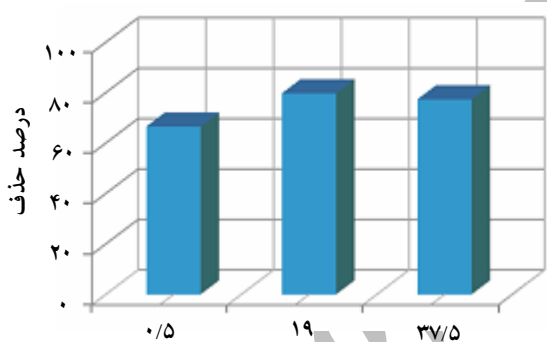
(ج)

شکل ۱ اثر تغییرات pH در محلول بر میزان بازیافت یونهای کادمیم (الف)، نیکل (ب) و سرب (ج)



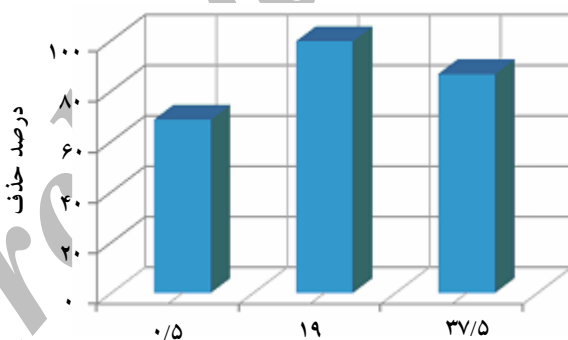
غلظت اولیه یونی، ppm

(الف)



غلظت اولیه یونی، ppm

(ب)



غلظت اولیه یونی، ppm

(ج)

شکل ۲ اثر تغییرات غلظت یونهای فلزی در محلول بر میزان بازیافت یونهای کادمیم (الف)، نیکل (ب) و سرب (ج)

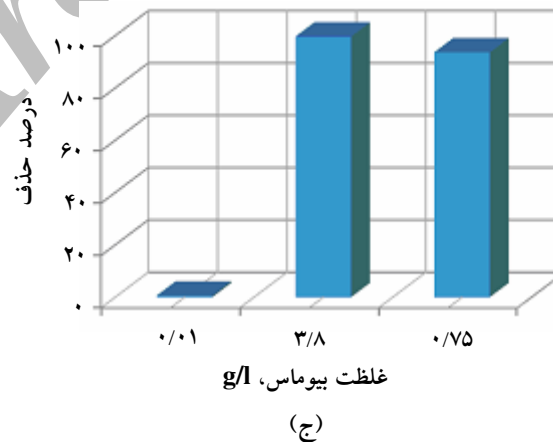
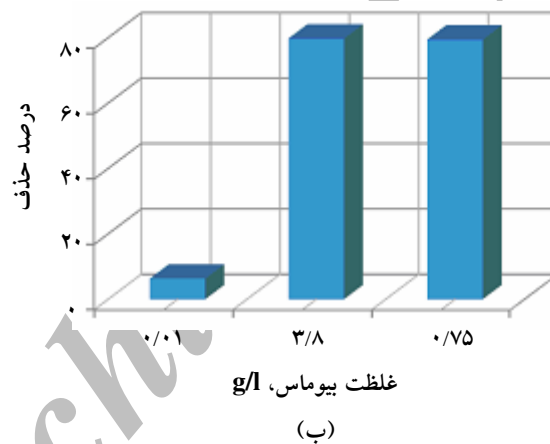
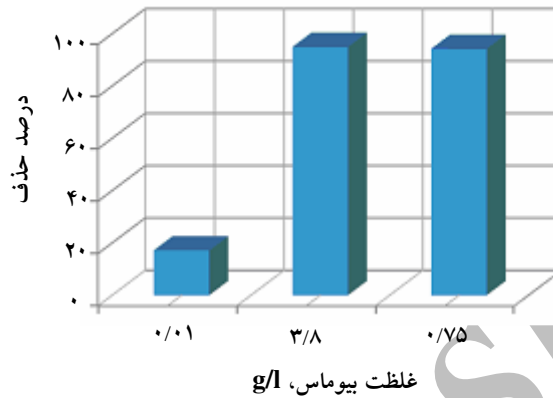
نشان می‌دهد با افزایش غلظت بیومس از 0.01 تا 0.38 g/l، میزان ظرفیت جذب افزایش می‌یافت و مقدار حذف جزئی $17.2 \pm 1.1\%$ کادمیم، $63.5 \pm 0.98\%$ نیکل و $0.7 \pm 0.05\%$ سرب به حدود حذف بسیار مطلوب $95 \pm 1/17$ ، $79/81 \pm 2/0.3$ و $99/73 \pm 1/31$ افزایش یافت. پس از آن کاهش در میزان جذب

۳-۳ اثر غلظت *Aspergillus niger* در محلول بر جذب $Pb(II)$ ، $Ni(II)$ و $Cd(II)$

آزمایشها روی اثر غلظت بیومس بر فرآیند بازیافت فلزات نیکل، سرب و کادمیم به وسیله *A. niger* با هدف مشاهده اثر این شاخص بر میزان جذب فلزی انجام شد (شکل ۳). آزمایشها

بیومس موجود در محیط کشت در حد 0.75 g/l بودند. البته در مقدار بیومس بالا هم حذف در حد مطلوبی انجام می‌شود و محدودیت ایجاد شده برای درصد حذف کمتر از مقادیر خیلی کم بیومس مرده در محیط کشت می‌باشد.

سطحی در مقادیر بالاتر از 0.38 g/l اتفاق افتاد و داده‌های درصد حذف یونهای فلزی در مقادیر 94.3 ± 2.2 درصد کادمیم، 79.5 ± 0.98 درصد نیکل و 93.7 ± 1.2 درصد سرب نیز بیانگر همین کاهش در مقدار درصد حذف یونهای فلزی در مقدار



شکل ۳ اثر تغییرات مقدار بیومس مورد استفاده در محلول بر میزان بازیافت یونهای کادمیم (الف)، نیکل (ب) و سرب (ج)

۴- بحث

۴-۱- اثر pH اولیه محلول بر میزان جذب فلزات در محلول

در ابتدای اجرای آزمایشهای جذب فلزات سنگین در محلولهای آبی، مقدار pH کاهش می‌یابد. این پدیده می‌تواند با توجه به آزاد شدن H^+ از برخی ترکیبات بیومس در داخل محلول قابل توجیه باشد که نوعی تعویض یونی بین H^+ و یونهای فلزی است. pH محلول نیز مؤثر از خصوصیات شیمیایی مواد و فعالیت گروههای عاملی (کربوکسیلیک، فسفات و آمینو) روی دیواره سلولی به صورت ترکیب با یونهای فلزی در جایگاههای مورد نظر می‌باشد [۱۰]. به طور اساسی رفتار جذب مواد مختلف از قبیل: (الف) جذب کم در pH پایتتر از ۴ مشابه هستند (ب) و جذب قابل توجه زمانی که pH محلول در محدوده ۴ تا ۷ قرار دارد [۱۱]. البته اتصال هر فلز به دیواره سلولی به صورت رقابتی با دیگر یونهای فلزی تحت تأثیر pH قرار دارند [۱۲]. Lanouette [۱۳] گزارش کرد که درغلظت اولیه ۱۰۰ mg/l و در $pH = 8$ ، رسوب یونهای نیکل به صورت هیدروکسید قابل مشاهده است [۱۳]. این ایجاد رسوب باعث کاهش مقدار یونهای نیکل آزاد برای تجمع و جذب به وسیله ارگانسیم می‌شوند. Akthar و همکاران [۱۴] نیز نشان دادند که گروههای کربوکسیلیکی از اجزای دیواره سلولی *A. niger* مکان جذب یونهای فلزی هستند و در مقادیر pH خیلی اسیدی، بار سطحی کل سلول مثبت می‌گردد و در نتیجه کاتیونهای فلزی و پروتونها به رقابت برای قرارگیری در مکانهای اتصال روی دیواره سلولی می‌پردازند، در نتیجه میزان جذب فلز کاهش می‌یابد. در pHهای بالاتر حالت یونی گروههای کربوکسیلیک، فسفات و آمینو به صورتی است که واکنش یونهای فلزی را افزایش می‌دهد بنابراین اتصال مؤثر به سرعت حاصل می‌گردد. در pH پایتتر از ۳، گروههای کارکردی دیواره سلولی به مقدار زیادی به وسیله یونهای H^+ اشغال می‌شوند و محدودیت برای قرارگیری

کاتیونهای فلزی در نتیجه وجود نیروی دافعه اتفاق می‌افتد. این موضوع را پژوهشگران دیگری هم عنوان کرده‌اند [۱۵-۱۹] در حالی که با افزایش در مقدار pH از ۳ تا ۸، بیشتر گروههای کارکردی مانند گروههای کربوکسیلیک و فسفات دارای بار منفی می‌شوند و توانایی جذب یونهای فلزی با بار مثبت بالا می‌رود [۱۱-۱۵].

طی مطالعاتی توسط Barros و همکاران [۲۰] درصد حذف کادمیم در محلول با pH ۴/۷۵ با حضور بیومس قارچ *A. niger* در حد ۸۴٪ به دست آمد که در مقایسه مقدار آن در کار حاضر که $95 \pm 1/61$ درصد است، توانایی بهتر قارچ را در همراه بودن شرایط مطلوب از نظر غلظت اولیه یونهای فلزی و مقدار بیوماس علاوه بر pH مناسب نشان می‌دهد. همچنین Congeevaram و همکاران [۲۱] میزان حذف نیکل را در همین شرایط ۹۰٪ گزارش کردند که مقدار بالای حذف نیکل را توسط قارچ مورد نظر نشان می‌دهد که تأییدی بر نتایج به دست آمده در مطالعه کنونی با $79/8 \pm 1/23$ درصد نیکل می‌باشد. Nourbakhsh و همکاران [۱۲] در رابطه با حذف فلز سرب در مخلوط چندتایی فلزات در محیط کشت با pH ۴ و با استفاده از باکتری *Bacillus sp* بازیافت کامل یونهای سرب را در حضور این گونه مشاهده کردند که نشان از توانایی بالای این گونه برای استفاده در فرآیندهای صنعتی حذف فلزات سنگین از فاضلاب می‌باشد و ممکن است در صورت آماده سازی کارایی بالاتر از قارچ *A. niger* با درصد حذف ۹۹/۷٪ داشته باشد.

۴-۲- اثر غلظت اولیه یونهای سرب، نیکل و

کادمیم بر میزان ظرفیت جذب فلزی

بر اساس مشاهدات مقدار فلز جذب شده به ازای واحد جرم بیومس زمانی افزایش می‌یابد که غلظت اولیه یونهای فلزی در محلول بالا رود و ممکن است نتیجه اشباع مکانهای فعال بیومس باشد که منجر به حداکثر ظرفیت جذب یونهای فلزی توسط بیومس می‌شود یا به علت افزایش در تعداد یونهای در

۴-۳- اثر غلظت *Aspergillus niger* در محلول بر جذب $Pb(II)$ ، $Ni(II)$ و $Cd(II)$

حداکثر ظرفیت تعادلی در مقدار بیومس 0.38 g/l به دست آمد. این می‌تواند بیان‌کننده تراکم اجزای سلولی در غلظتهای بالای بیومس به علت کاهش نقاط فعال باشد [۲۹]. طی مطالعات دیگر پژوهشگران هم مشاهده می‌شود که در مقادیر پایین بیومس، درصد جذب بالاتر فلزات سنگین از محیطهای آبی صورت می‌گیرد. اما Jianlong و همکاران [۲۸] با مقدار بیومس 0.1 g/l از قارچ *A. niger* درصد حذف سرب را 100% گزارش کردند. همچنین Congeevaram و همکاران [۲۱] نیز درصد حذف نیکل را در همین شرایط 90% گزارش کردند. نتایج این دو تحقیق درستی استدلالهای کنونی را در رابطه با بالا بودن میزان جذب فلزات سنگین در میزان کم بیومس مورد استفاده در محیط کشت تأیید می‌نماید. همینطور Waihung و همکاران [۳۰] میزان جذب را به ازای 0.05 تا $1/5 \text{ g/l}$ بیومس از میکروارگانیزم *Mucor rouxii* حدود 769 mg/g ذکر کردند که مقدار بسیار مطلوب و بالایی است و توانایی این قارچ را برای حذف فلزات سنگین از فاضلاب نشان می‌دهد. در همین تحقیق قارچ *A. niger* پس از *Mucor rouxii* توانایی بالایی حذف سرب را در حد 714 mg/g داشته است و بنابراین می‌تواند به طور مطلوبی برای حذف یونهای فلزات سنگین از فاضلابهای آلوده استفاده شود. Barros و همکاران [۷] نیز در مقدار بیومس 0.7 g/l از قارچ *A. niger* 84% حذف یونهای کادمیم را مشاهده کردند و کم بودن مقدار حذف یونهای فلزی نسبت به مقادیر کمتر بیومس بیانگر کارایی بالایی بیومس در حد کم برای حذف فلزات از محیط کشت می‌باشد.

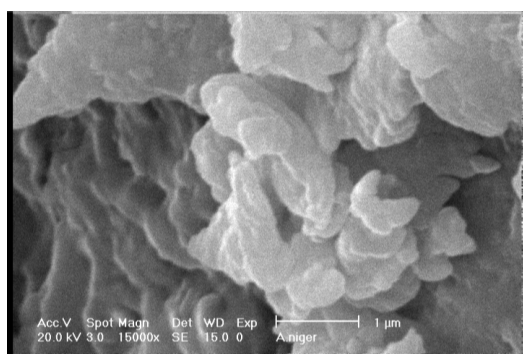
۴-۴- اثر آماده سازی با سود بر میزان جذب یونهای فلزی

ظرفیت جذب یونهای فلزی توسط سلولهای مرده ممکن است بیشتر، مساوی یا کمتر از سلولهای زنده باشد [۳۱]. این موضوع مرتبط با عوامل مختلفی مانند روش آماده سازی مورد

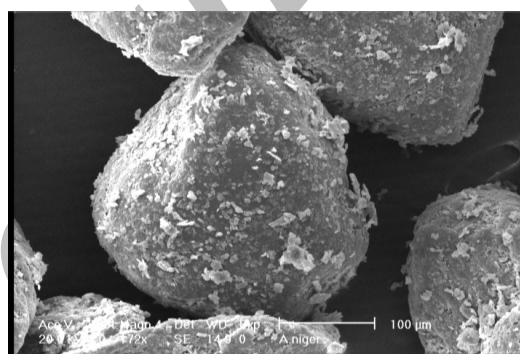
حال رقابت برای قرارگیری در جایگاههای موجود در دیواره خارجی بیوماس در غلظتهای بالاتر یونهای فلزی باشد [۲۲]، [۲۳]. به عبارت دیگر ظرفیت جذب بیوماس با زیاد شدن غلظت یونهای فلزی در محلول افزایش می‌یابد [۲۴]. علاوه بر آن افزایش غلظت یونهای فلزی باعث بالا رفتن تعداد برخوردی بین یونهای فلزی و جذب می‌گردد که فرآیند جذب را تسریع می‌کند [۲۵]. مشاهدات، اثر غلظت اولیه یونهای فلزی را در فرآیند جذب این فلزات تأیید می‌کنند و بیشترین ظرفیت جذب متجاوز از $95 \pm 1/61$ درصد کادمیم، $79/8 \pm 1/36$ درصد نیکل و $99/7 \pm 1/25$ درصد سرب در غلظت یونهای فلزی ۱۹ به دست آمدند. این جذب بالا ممکن است به علت افزایش در واکنشهای الکترواستاتیک، شامل مکانهایی برای کاهش میل ترکیبی برای یونهای فلزی باشد [۱۰]. در پژوهشی توسط Lebeau و همکاران [۲۶] میزان جذب فلز کادمیم توسط میکروارگانیزم *Actinomyceete R27* بررسی و مقدار جذب در حد 69% مشاهده شد. در ادامه Pradhan و همکاران [۲۷] نیز میزان جذب کروم، نیکل و آهن را بررسی کردند و مشخص شد که میکروارگانیزم *Microcystis* توانایی جذب این فلزات را در محدوده ۷۰ تا 80% دارد. البته این مطالعات میزان درصد جذب پایینتری را نسبت به داده‌های به دست آمده برای میزان جذب فلزات کادمیم، سرب و نیکل در مطالعه حاضر (حد بالای ۹۰ درصد) نشان می‌دهند. Jianlong و همکاران [۲۸] نیز در غلظت 10 mg/l سرب مقدار جذب را برای قارچ *A. niger* در حد ۱۰۰ درصد مشاهده کردند که نشان از افزایش میزان جذب ارگانیزم در غلظتهای قابل توجه یونهای فلزات سنگین دارد. بنابراین محدودیت جذب یونهای فلزی در غلظتهای بالا کمتر از غلظتهای خیلی پایین یونها می‌باشد و با توجه به آلودگی زیاد فاضلاب کارخانه‌ها و غلظت بالای فلزات محلول در آب، استفاده از بیومس میکروارگانیزمها برای جذب فلزات می‌تواند بسیار مؤثر و سودمند باشد.

دوم قلیایی شدن بالای محیط است [۲۹]. شکل (۴) ساختار کلی سلولهای مرده قارچ *A. niger* را با استفاده از روش میکروسکوپ الکترونی (SEM) قبل از آماده‌سازی و شکل (۵) ساختار این سلولها را بعد از آماده‌سازی نشان می‌دهد. واضح است که در لایه‌های سطحی قارچ بعد از آماده‌سازی یک سری ساختار ریز خلل و فرج دار با سطح تمیز و فاقد آلودگی ایجاد شد که ممکن است به علت استفاده از سود باشد که باعث رفع آلودگیهای موجود در سطح جاذب و در نتیجه توانایی بالاتر برای حذف یونهای فلزی با قرارگیری در جایگاه اتصالی در دیواره خارجی سلول می‌شود.

استفاده و نوع یونهای فلزی مورد مطالعه است که قارچ را تحت تأثیر قرار می‌دهند [۳۲]. آماده سازی بیومس به‌وسیله سود به مقدار قابل توجهی محصول جذب سطحی را افزایش می‌دهد [۳۱] که می‌تواند نتیجه آشکار شدن مکانهای فعال قرارگیری فلزات در دیواره سلولی و در نتیجه توانایی جذب بیشتر مکانهای آنیونی باشد. دلیل دیگر ممکن است بازیافت آلودگیهای سطح سلول باشد [۱۴، ۳۳]. مهمترین اثر آماده‌سازی با سود (NaOH) میزان بالای غیر پروتونه شدن گروههای اتصالی هستند. این موضوع دو اثر روی فرایند جذب سطحی دارد: اول، افزایش مکانهای در دسترس برای یونهای فلزی و

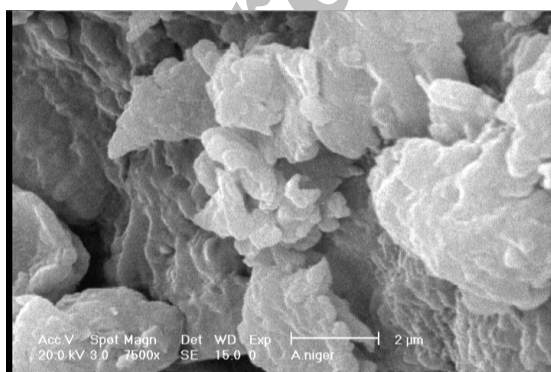


(الف)

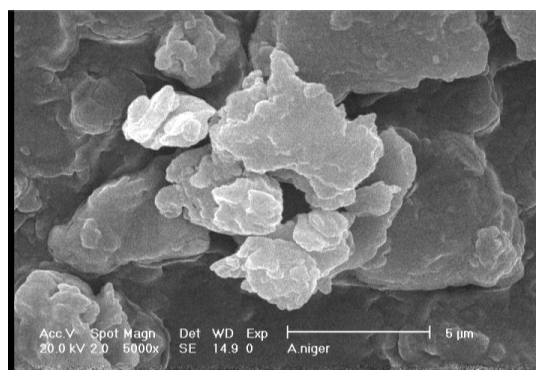


(ب)

شکل ۴ ساختار کلی سلولهای مرده قارچ *A. niger* با استفاده از روش میکروسکوپ الکترونی قبل از آماده سازی. بخش (الف) دارای بزرگنمایی ۱ μm و بخش (ب) بزرگنمایی ۱۰۰ μm می‌باشند.

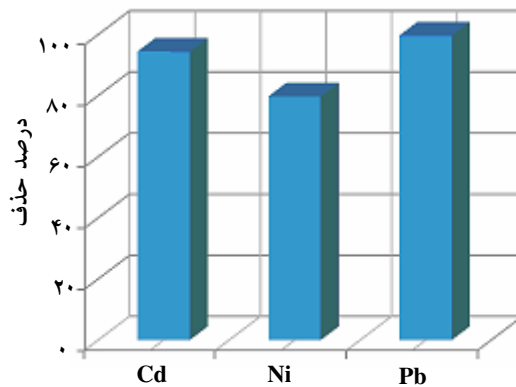


(الف)



(ب)

شکل ۵ ساختار کلی سلولهای مرده قارچ *A. niger* با استفاده از روش میکروسکوپ الکترونی (SEM) بعد از آماده سازی. دو شکل (الف) دارای بزرگنمایی ۲ μm و (ب) دارای بزرگنمایی ۵ μm هستند.



شکل ۶ بررسی میزان جذب یونهای فلزی کادمیم، نیکل و سرب

بیومس و غلظت اولیه یونهای فلزی بر میزان جذب یونهای فلزی بسیار مؤثر بودند و حداکثر جذب سطحی به ترتیب عوامل ذکر شده در ۵، ۳/۸g/l و ۱۹mg/l حاصل شد. میزان حذف یونهای فلزی در شرایط بهینه ۹۵/±۱/۶۱ کادمیم، ۷۹/۸±۱/۲۵ نیکل و ۹۹/۷±۱/۲۵ سرب بودند. با توجه به این که استفاده از بیومس میکروبی برای حذف یونهای فلزی در مخلوط یونها ممکن است باعث کاهش درصد حذف یونهای مورد نظر گردد؛ این نتایج بیانگر کارایی بالای بیومس قارچی مورد استفاده در شرایط طبیعی با حضور یونهای فلزی مختلف در فاضلاب کارخانه‌های صنعتی است. بنابراین بیومس قارچ *A. niger* یک جاذب مؤثر برای بازیافت یونهای فلزی و قابل کاربرد در تکنولوژیهای اصلاحی عملی در فاضلاب حاوی یونهای فلزات سنگین می‌باشد.

۶- سپاسگزاری

از سرکار خانم مهندس حقدوست کارشناس آزمایشگاه محیط زیست دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی که در پیشرفت عملی این کار تحقیقاتی یاری کردند، کمال تشکر را داریم. همچنین از دوستان عزیز خانمها مهندس اعتمادی، مهندس خوشنود و مهندس تجلی بخش که در مراحل اجرای این پژوهش یاری فرمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

۴-۵ بررسی میزان کارایی قارچ *Aspergillus*

niger برای حذف مطلوب یونهای فلزی

نتایج آورده شده در شکل (۶) برای مقایسه مقدار یونهای فلزی حذف شده نشان می‌دهد که این قارچ بالاترین کارایی را برای حذف یونهای سرب دارد و ظرفیت حذف یونهای کادمیم پس از آن قرار دارد. در مورد حذف یونهای نیکل مقدار حذف با فاصله زیاد از دو یون فلزی دیگر که در محدوده‌های بالای ۹۰٪ می‌باشند، در حد ۷۹٪ قابل مشاهده است. نتایج Akar و همکاران [۳۲] نیز کارایی کم قارچ آماده سازی شده را برای حذف یونهای نیکل نسبت به نمونه فاقد آماده سازی نشان می‌دهد؛ بنابراین برای افزایش درصد حذف یونهای نیکل و رسیدن به حد مطلوب باید از روشهای دیگر آماده سازی نیز استفاده کرد تا بهترین روش آماده سازی که دارای توانایی جذب بالا برای تمام یونهای فلزات سمی و خطرناک می‌باشد، در حالت عملی در فاضلاب کارخانه‌ها استفاده شود.

۵- نتیجه گیری

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان دادند که بیومس مرده *A. niger* در صورت آماده سازی با سود، جاذبی مؤثر برای حذف یونهای فلزات سنگین سرب، کادمیم و نیکل از محلولهای آبی در حالت مخلوط با هم است. غلظت اولیه

۷- منابع

- [1] Nuhoglu Y., Oguz E.; Removal of copper (II) from aqueous solutions by biosorption on the cone biomass of *Thuja orientalis*; *Process Biochemistry*; 2003; 38:1627-1631.
- [2] Kapoor A., Viraraghavan T., Cullimore D. R.; Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*; *Bioresource Technology*; 1999; 70:95-104.
- [3] Mukhopadhyay M., Noronha S. B., Suraishkumar G. K.; Kinetic modeling for the biosorption of copper by pretreated *Aspergillus niger* biomass; *Bioresource Technology*; 2007; 98: 1781-1787.
- [4] Pamukoglu M.Y., Kargi F.; Removal of copper (II) ions from aqueous medium by biosorption onto powdered waste sludge; *Process Biochemistry*; 2006; 41:1047-1054.
- [5] Sawalha M. F., Peralta-Videa J. R., Romero-González J., Duarte-Gardea M., Gardea-Torresdey J. L.; «Thermodynamic and isotherm studies of the biosorption of Cu (II), Pb (II), and Zn (II) by leaves of saltbush (*Atriplex canescens*)»; *J. Chem. Thermodynamics*; 2007; 39:488- 492.
- [6] Yang Y., Liu N., Luo S., Liao J., Jin J., Zhang T., Zhao P.; «Sorption of ^{241}Am by *Aspergillus niger* spore and hyphae»; *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*; 2004; 260:659-663.
- [7] Barros A. J. M., Prasad S., Leite V.D., Souza A.G.; Biosorption of heavy metals in upflow sludge columns; *Bioresource Technology*; 2007; 98:1418-1425.
- [8] Chubar N., Carvalho J. R., Correia M. J. N.; Heavy metals biosorption on cork biomass: effect of the pre-treatment, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*; 2004; 238:51-58.
- [9] Pamukoglu M. Y., Kargi F.; «Batch kinetics and isotherms for biosorption of copper (II) ions onto pre-treated powdered waste sludge (PWS)»; *Journal of Hazardous Materials*; 2006; 138:479-484.
- [10] Liu Y-g., Fan T., Zeng G. M., Li X., Tong Q., Ye F., Zhou M., Xu W. H., Huang Y. E.; Removal of cadmium and zinc ions from aqueous solution by living *Aspergillus niger*; *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*; 2006; 16:681-686.
- [11] Svecova L., Spanelova M., Kubal M., Guibal E.; Cadmium, lead and mercury biosorption on waste fungal biomass issued from fermentation industry. I. Equilibrium studies. *Separation and Purification Technology*; 2006; 52:142-153.
- [12] Nourbakhsh M. N., Kiliçarslan S., İlhan S., Ozdag H.; Biosorption of Cr^{6+} , Pb^{2+} and Cu^{2+} ions in industrial waste water on *Bacillus* sp; *Chemical Engineering Journal*; 2002; 85:351-355.
- [13] Lanouette K. H., Heavy metals removal. *Chemical Engineering Deskbook Issue*; 1977.
- [14] Akthar M.D. N., Sastry K. S., Mohan P. M.; Mechanism of metal ion biosorption by fungal biomass; *BioMetals*; 1996; 9:21-28.
- [15] Guibal E., Roulph C., Lecloirec P. L.; Uranium biosorption by filamentous fungus *Mucor miehei*, pH effect on mechanisms and performances of uptake; *Water Res*; 1992; 26:1139-1145.
- [16] Fourest E., Volesky B.; Alginate properties and heavy metal biosorption by marine algae; *Applied Biochem. Biotechnol*; 1997; 67:215-226.
- [17] Fourest E., Roux J. C.; Heavy metal biosorption by fungal mycelial by-products: mechanisms and influence of pH; *Appl. Microbiol. Biotechnol*; 1997; 37:399-403.
- [18] Benedetti M., Milne C., Kinniburgh D., Van Riemsdijk W. H., Koopal L.; Metal binding to humic substances. Application of the non-ideal competitive adsorption model. *Environ. Sci. Technol*; 1995; 29:446-450.

- [19] Huang C., Huang C. P.; Application of *Aspergillus oryzae* and *Rhizopus oryzae* for Cu (II) removal. *Water Res*; 1996; 30:1985-1990.
- [20] Barros Júnior L. M., Macedo G. R., Duarte M. M. L., Silva E. P., Lobato AKCL.; Biosorption of cadmium using the fungus *Aspergillus niger*; *Brazilian Journal of Chemical Engineering*; 2003; 20:229-239.
- [21] Congeevaram S., Dhanarani S., Park J., Dexilin M., Thamaraiselvi K.; «Biosorption of chromium and nickel by heavy metal resistant fungal and bacterial isolates; *Journal of Hazardous Materials*»; 2007; 146:270-277.
- [22] Bai S. R., Abraham T. E.; Biosorption of Cr (VI) from aqueous solution by *Rhizopus nigricans*, *Bioresour; Technol*; 2001; 79(1):73-81.
- [23] Bai S. R., Abraham T. E.; Studies on chromium (VI) adsorption-desorption using immobilized fungal biomass, *Bioresour; Technol*; 2003; 87:17-26.
- [24] Aksu Z.; Equilibrium and kinetic modeling of cadmium (II) biosorption by *C. vulgaris* in a batch system: effect of temperature, *Sep. Purif. Technol*; 2002; 21:285-294.
- [25] Kumar R., Bishnoi N. R., Garima., Bishnoi K.; «Biosorption of chromium (VI) from aqueous solution and electroplating wastewater using fungal biomass»; *Chemical Engineering Journal*; 2008; 135:202-208.
- [26] Lebeau T., Bagot D., ézéquel K., Fabre B.; Cadmium biosorption by free and immobilised microorganisms cultivated in a liquid soil extract medium: effects of Cd, pH and techniques of culture; *The Science of the Total Environment*; 2002; 291:73-83.
- [27] Pradhan S., Singh S., Rai L. C.; Characterization of various functional groups present in the capsule of *Microcystis* and study of their role in biosorption of Fe, Ni and Cr. *Bioresource Technology*; 2007; 98:595-601.
- [28] Jianlong W., Xinmin Z., Decai D., Ding Z.; «Bioadsorption of lead (II) from aqueous solution by fungal biomass of *Aspergillus niger*»; *Journal of Biotechnology*; 2002; 87:273-277.
- [29] Selatnia A., Boukazoula A., Kechid N., Bakhti M. Z., 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.
- [30] Waihung L., Hong C., Kim-Hung L Shu-Ping B.; A comparative investigation on the biosorption of lead by filamentous fungal biomass; *Chemosphere*; 1999; 39:2723-2736.
- [31] Dursun AYA.; «Comparative study on determination of the equilibrium, kinetic and thermodynamic parameters of biosorption of copper (II) and lead (II) ions onto pretreated *Aspergillus niger*»; *Biochemical Engineering Journal*; 2006; 28:187-195.
- [32] Akar T., Tunali S., Kiran I.; «*Botrytis cinerea* as a new fungal biosorbent for removal of Pb (II) from aqueous solutions; *Biochemical Engineering Journal*; 2005; 25:227-235.
- [33] Kapoor A., Viraraghavan T.; Heavy metal biosorption sites in *Aspergillus niger*; *Bioresour. Technol*; 1997; 61:221-227.