علوم و تکنولوژی محیط زیست ، دوره یازدهم، شماره دو، تابستان ۸۸

جذب بیولوژیکی *Cr(VI)* توسط توده سلولی مرده *Aspergillus niger*

رضا مرندی[۱]
آیدا حجتی[۲] (مسئول مکاتبات)
عباس اخوان سپهی[۳]

تاریخ دریافت:۸۶/۴/۲۰ **تاریخ پذیرش:۸۶/۱۱/۲۳**

چکیده

Cr(VI) از جمله یون های فلزی است که آلودگی وسیعی را در محیط زیست ایجاد می کند. برای کاهش آلایندگی فلزات سنگین می توان از میکروارگانیسم ها استفاده کرد.در این بررسی برای جداسازی Cr(VI) ازتوده سلولی آسپرژیلوس نایجر استفاده شده است. برای بالا رفتن بازده کار، توده سلولی زنده در NaOH ۰/۵ N جوشانده می شود و پس از رساندن pH آن به حد نرمال مورد استفاده قرار می گیرد.تغییرات pH از جمله عوامل اساسی در جذب Cr(VI) می باشد.بهترین جذب در pH= ۲ صورت می گیرد. در این تحقیق اثرات تغییرات دما، غلظت، زمان ، دور شیکرومیزان جاذب بررسی شده است و نتایج به دست آمده نشان می دهد که این مقادیر از مدل های فرندلیش و لانگمور پیروی می کنند در ضمن نمودارهای مربوط به هر دو مدل رسم شده، در مدل لانگمور۰/۹۵۴۴ R^2= و در مدل فرندلیش ۰/۹۹۲ =R^2 می باشد. مشاهدات نشان می دهد با افزایش دما مقدار جذب افزایش می یابد و این دو با هم رابطه مستقیم دارند.مقدار درصد حذف Cr (VI) از محلول بعد از ۲۴ ساعت ۷۴/۶٪ می باشد. نتایج به دست آمده حاکی از آن است که جوشاندن میسلیوم های قارچ اسپرژیلوس نایجردر NaOH اثر بهتری بر جذب یون های Cr(VI) گذاشته و جذب را تا چندین برابر افزایش می دهد.مقدار سمیت Cr(VI) با تبدیل به Cr(III) نیز کاهش می یابد ومقداری از آن نیز از طریق جذب سطحی حذف می شود.

واژه های کلیدی: جذب بیولوژیکی، آسپرژیلوس نایجر، لانگمور،فرندلیش(Cr(VI) ، فلزات سنگین.

۱- استادیار،دانشکده فنی مهندسی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال
۲- کارشناس ارشد، دانشکده شیمی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال
۳- استادیارگروه میکروبیولوژی،دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

کروم از جمله عناصری است که از اهمیت اقتصادی زیادی در صنایع برخوردار است و در عین حال آلودگی زیادی را در محیط زیست ایجاد می کند(۱). کروم حالت های اکسایش مختلفی از ۲- تا۶+ را داراست ولی فقط حالت های اکسایش ۳+ و ۶+ در محیط مائی وجود دارند (۲).کروم در پساب های حاوی رنگدانه ها، پیگمان ها، در پساب چرم سازی و صنایع آبکاری (۳)یافت می شود. Cr(VI) سمی ترین حالت در کل حالت-های اکسایش کروم می باشد برای کاهش این سمیت و جداسازی Cr(VI) از پساب ها روش های متفاوتی استفاده شده است، به عنوان مثال رزین های تعویض یونی، فیلتراسیون و روش های تصفیه شیمیایی از جمله این روش ها می باشد، اما این روش ها دارای معایبی نیزاست. مقدار انرژی مصرفی بالا و تولید لجن از جمله این معایب هستند(۳و۴). استفاده از جذب سطحی توسط میکروارگانیسم ها ازجمله روش هـــایی است که مزایای زیادی را دارد، برای این منظور میکروارگانیسم هایی نظیر قارچ ها، باکتری ها و جلبک ها مورد استفاده قرار می گیرند (۴).و در بیشتر موارد توده سلولی مرده بهتر از توده سلولی زنده در جداسازی فلزات سنگین عمل می کند(۵). از جمله مزایای این روش می توان نیاز نداشتن به محیط کشت در هنگام عمل جذب، بازجذب فلز، استفاده مجدد از توده سلولی و در بر داشتن هزینه کم این روش را نام برد(۶).

جذب سطحی فلزات سنگین توسط قارچ ها از جمله موارد پیشنهادی برای جداسازی فلزات سنگین می باشد (۷).از جمله قارچ هایی که برای جداسازی فلـــزات سنگین استفاده می شود می توان *Rhizopuz*و *pencillium* را نام برد(۸) در این آزمایش ها از توده قارچی *Aspergillus niger* استفاده شـــده است. این قارچ در تولید سیتریک اسیـــد و آنزیم هایی نظیر آمیلاز ،گلوکزایزومراز و لیپاز استفاده می شود(۱)

مطالعات اخیر نشان می دهد که در طی جداسازی Cr(VI)توسط مکانیسم جذب سطحی، گروه های کرومات با بار منفی با بارهای مثبت نظیر گروه های آمینه سطح سلول پیوند برقرار می کندو توده سلولی مرده آسپرژیلوس نایجرباعث کاهش Cr(VI)به Cr(III) می شود. این کاهش بستگی به عوامل متفاوتی نظیر pH، زمان تماس، غلظت فلز و غلظت توده سلولی دارد (۷و۸).

مواد وروش ها

۱-آماده سازی توده سلولی

قارچ مورد استفاده در این آزمایش ها آسپرژیلوس نایجر می باشد. به منظور کشت آسپر ژیلوس نایجر از محیط کشت مایع PDA استفاده شده است. بدین منظور ابتدا در ارلن های ۵۰۰ml و۱۰۰۰ml محیط کشت به مقدار معینی ریخته شده و pH محیط بر روی۵ تثبیت می گردد. سپس اسپورها به محیط کشت منتقل می شوند و محیط به مدت ۵ روز بر روی شیکر با دور ۱۵۰rpm و دما ۲±۲۲ قرار می گیرد. پس از ۵ شبانه روز توده قارچی توسط صافی ۱۵۰µm صاف شده و به کمک آب مقطر شسته می شود. توده سلولی تهیه شده را بیومس زنده می گویند.به منظور کشتن توده سلولی آن را توسط ۰/۵N NaOH به مدت ۱۵دقیقه می جوشانند، سپس توده سلولی مرده را صاف کرده و به دفعات با آب مقطر شستشو می دهند تا pH محیط به حد نرمال برسد.در مرحله بعدتوده سلولی را به آون ۶۰°C منتقل کرده آن را به مدت ۱۲ساعت خشک می کنند. سپس توده سلولی خشک شده را به حالت پودری شکل در آورده و انبار می کنند.

۲-جداسازی Cr(VI)

جداسازی Cr(VI) توسط توده سلولی مرده آسپرژیلوس نایجر در یک سیستم ناپیوسته (batch) صورت می گیرد. کلیه آزمایش ها توسط نمک K_2CrO_4 که غلظت ۱۰۰۰ ppm از آن تهیه شده است انجام می گیرد. برای انجام آزمایش ها محلول های با غلظت ۳۰mg/l وحجم۱۰۰ cc تهیه شده و دور شیکر ۱۵۰ rpm ، دما ۳۰°C ، ومقدار توده سلولیgr ۰/۲ می باشد. برای تعیین pH بهینه، ۸، ۶، ۴، ۳، ۲،

Archive of SID

www.SID.ir

۱ =pH مورد آزمایش قرار می گیرد. در مراحل بعد اثرات تغییرات غلظت (۳۰،۵۰،۱۰۰،۱۵۰،۲۰۰mg/l)، تغییرات دما (۲۷ ،۳۰ ،۳۵ ،۴۰ ،۴۵ °C)، تغییرات دور شیکر(۱۰۰rpm، ۱۵۰ ،۲۰۰ ،۲۵۰) و میـــزان جـاذب (۲-۰/۵) بررســی می شود. برای تنظیم pH از HCL۰/۱ N و NaOH ۰/۱N استفاده می شود. مقدار Cr total و Cr(VI) انـــدازه گیری می شود. در طی آزمایش از افزایش ناچیز حجم محلول که در اثر تغییرات pH ایجاد شده است، صرف نظر می کنیم.

۳-آنالیز Cr total، Cr(VI)

غلظت Cr(VI) جذب نشده توسط روش رنگ سنجی و معرف ۱-۵ دی فنیل کربازید اندازه گیری می شود. در نتیجه واکنش این دو با یکدیگر کمپلکس ارغوانی رنگ در محیط اسیدی ایجاد می شود و اندازه گیری توسط روش اسپکتروفوتومتری در۵۴۰ nm صورت می گیرد (UVIKON mode 922).محلول معرف از انحلال۰/۲۵ gr از معرف ۱-۵ دی فنیل کربازید در ۵۰cc استون به دست می آید. اندازه گیری کل کروم موجود در محلول توسط دستگاه Atomic Absorption (GBC مدل932 PLUS) انجام می گیرد و از اختلاف این دو مقدار، مقدار Cr(III) موجود در محلـول را می توان به دست آورد.

بحث ونتایج

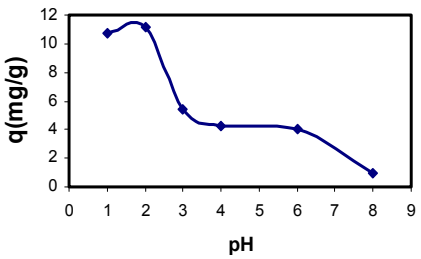
۱-تغییرات pH

بر اساس آزمایش های انجام گرفته(نمودار ۱) جداسازی Cr(VI) در pH های مختلف بررسی و مشاهده شده است که با کاهش pH مقدار جذب افزایش می یابد و مقدار Cr(VI) کاهش پیدا می کند. در هنگام کاهش PH ، میزان تبدیل Cr(VI)به Cr(III) بیشتر خواهد بود و در طی ۲۴ ساعت و غلظت۰/۲gr توده سلولی، مقدار غلظت Cr(VI) به ۷/۶۲mg/l کاهش می یابد و غلظت Cr(III) mg/l ۱۳/۶۷ خواهد بود در نتیجه۸/۷۱ mg/l Cr(VI) از طریق جذب سطحی حذف شده است(نمودار ۲). طبق مشاهدات صورت گرفته در حین انجام آزمایش ها مقدار pH افزایش پیدا می کند و pH از ۲ به ۲/۲۹ تبدیل می شود. این تغییرات pH بستگی به تغییرات غلظت محلول نیز دارد.

افزایش میزان pH محلول به علت کاهش یون های Cr(VI) به Cr(III) می باشد .زیرا در حین این تبدیل مقداری از پروتون های موجود در محیط مصرف شده و این امر باعث افزایش pH محیط می شود.

Cr(VI) در محلول بیشتر به دو حالت CrO_4^{2-}, $Cr_2O_7^{2-}$ می باشد. این گروه های آنیونی با گروه های مثبت بر روی توده سلولی پیوند برقرار می کند. وقتی pH بالا است سطح توده سلولی بیشتر دارای بارمنفی است ولی در pH های پایین سطح توده سلولی دارای بارمثبت خواهد بود. در نتیجه گروه های آنیونی فلزات سنگین تمایل به ترکیب با پروتون های دیواره سلولی را دارند.گروه های آمینه و کربوکسیل و نیتروژن های گروه های پپتیدی برای برقراری ارتباط با یون های فلزی مناسب خواهند بود.

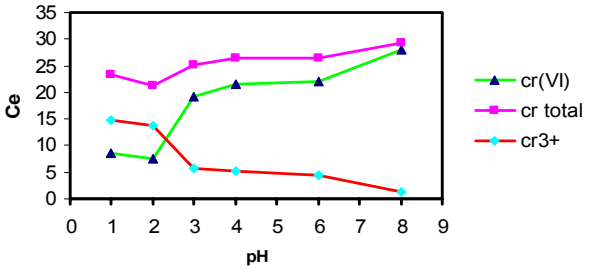
در pHهای پایین پروتونه شدن گروه های موجود در دیواره سلولی(کربوکسیل وآمین) باعث به وجود آمدن بار مثبت بر روی توده سلولی شده و منجر به جذب یون های فلزی با بار منفی می شود(۱۰و۱۱).



نمودار ۱- اثر تغییرات pH بر روی جذب Cr(VI) توسط آسپرژیلوس نایجر

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ۲- اثر تغییرات pH بر جذب Cr(VI) و کل کروم Cr(III)

۲- اثر تغییرات غلظت Cr(VI)

در این تحقیق غلظت های متفاوت از محلول کروم mg/l (۳۰-۲۰۰) بررسی (نمودار ۳) و مشاهده شده که با افزایش غلظت،مقدار جذب افزایش می یابد.افزایش غلظت محلول باعث می شود تعداد مولکول ها در واحد حجم و تعداد برخوردهای مولکولی افزایش یافته و سرعت واکنش زیاد شود. آزمایش های تغییرات غلظت از مرتبه یکم تبعیت می کنندو حذف کامل یون های Cr(VI)با گذشت زمان اتفاق می افتد.

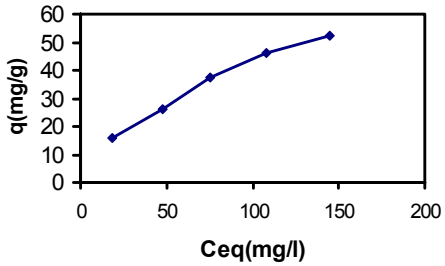
مقدار درصد جذب در غلظت های مختلف از معادله (۱)پیروی می کند (۱)

$$Ad\% \frac{(C0-Ce)}{C0}=\times ۱۰۰$$

C0 = غلظت اولیه محلول(mg/l)

Ce =غلظت نهایی محلول(mg/l)

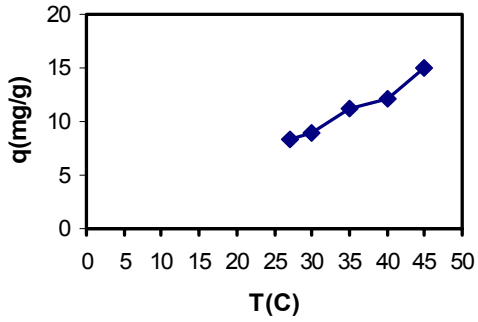
در این آزمایش۷۴/۶% از Cr(VI) موجود در محلول پس از گذشت ۲۴ ساعت به طریق جذب سطحی و کاهش Cr(VI) حذف شده است . با کاهش Cr(VI) به Cr(III) مقدار سمیت محلول کاهش یافته است.



نمودار ۳- نمودار غلظت براساس میزان جذب Cr(VI) توسط آسپرژیلوس نایجر

۳-اثر تغییرات دما

تغییرات دما نقش بسیار مهمی در کاهش Cr(VI) به Cr(III) و کاهش سمیت محلول دارد. نمودار ۴ اثر تغییرات دما را از ۲۷-۴۵°C نشان می دهد و مشخص می کند که در دمای ۴۵° C بعد از گذشت ۲۴ ساعت Cr(VI) کاملا از محیط حذف شده است. افزایش دما باعث افزایش سرعت کاهش Cr(VI) به Cr(III) می شود. طبق معادله آرنیوس $K = Ae^{Ea/RT}$ سرعت واکنش با 1/T رابطه مستقیم دارد و هر چه دما بیشتر شود انرژی فعال سازی کمتر و سرعت واکنش بیشتر می شود



نمودار ۴- اثر دما بر جذب بیولوژیکی Cr(VI)

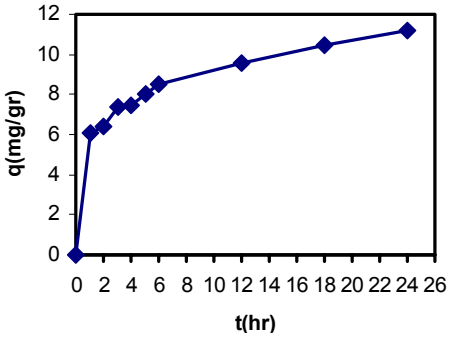
Archive of SID

www.SID.ir

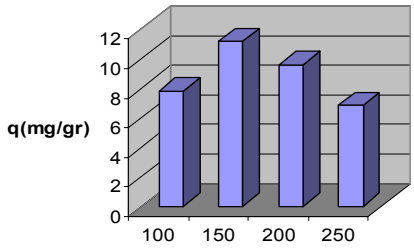
۴-اثر تغییرات زمان ودور شیکر

نمودار ۵ اثر تغییرات زمان از ۱تا ۲۴ساعت مورد بررسی قرار گرفته ومشخص شده که در طی ساعت اول بیشترین مقدار جذب رخ داده است ولی این مقدار ثابت نمانده و با گذشت زمان جذب در محلول رخ داده است . زیرا با گذشت زمان امکان تماس بین جاذب و محلول بیشتر می شود و مقدار جذب نیز بیشتر می گردد .

نمودار ۶ اثر تغییرات دور همزن را نشان می دهد طبق نتایج به دست آمده دور ۱۵۰ rpm بهترین دور برای انجام آزمایش ها می باشد، زیرا در دورهای بالاتر و پایین تر امکان تماس بین محلول و جاذب کاهش یافته جذب کم می شود.



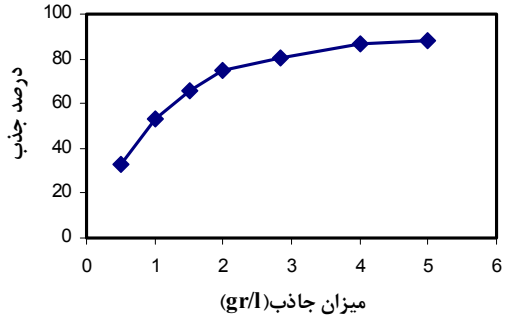
نمودار ۵- اثر زمان بر جذب بیولوژیکی Cr(VI)



شکل ۶- اثر دور همزن بر جذب بیولوژیکی Cr(VI)

۵- اثر تغییرات میزان جاذب

نمودار ۷ اثر تغییرات میزان جاذب را برجذب Cr(VI) نشان می دهد. در این آزمایش ها مقدارgr/l ۲-۰/۵از جاذب مورد استفاده قرار می گیرد. مشاهدات نشان می دهد میزان جداسازی Cr(VI) با افزایش میزان جاذب افزایش می یابد. ولی این مقدار در محدودهgr/l ۳-۲ تثبیت می شود و تغییرات زیادی در میزان جذب مشاهده نمی شود.واکنش مورد نظر از درجه اول پیروی می کند.



نمودار ۷- نمودار درصد جذب بر اساس میزان جاذب

ایزوترم های جذب

پدیده جذب فلزات و اکسی آنیون آنها می تواند به صورت کمی از ایزوترم های تعادلی جذب بیولوژیکی ارزیابی شود.

با برخورد بین جاذب و محلول، یک حالت تعادلی بین این دو با گذشت زمان ایجاد می شود.

در معادله لانگمور فرض بر این است که تعداد مشخصی نقاط فعال بر روی سطح سلول توزیع شده ،که این نقاط میل ترکیبی یکسانی برای ایجاد پیوند دارند و جذب در یک لایه اتفاق می افتد و هیچ گونه واکنشی بین مولکول های جذب شده اتفاق نمی افتد(۱۲)

مقدار ظرفیت جذب توده سلولی برای غلظت مشخصی از Cr(VI) توسط معادله(۲) محاسبه می شود

$$q_{eq} = \frac{(C0 - C_{eq})}{X} V \qquad (۲)$$

$C0$ = مقدار غلظت اولیه محلول(mg/l)

C_{eq}= مقدار غلظت نهایی محلول(mg/l)

V= حجم محلول (L)

X= وزن توده سلولی(gr)

Archive of SID

www.SID.ir

در مرحله بعد نتایج به دست آمده در دو مدل فرندلیش و لانگمور جایگزین شده و مشاهده می شود مقادیر به دست آمده از این دو مدل تبعیت می کند روابط ۳ و۴ هردو مربوط به مدل فرندلیش می باشد

$$q_{eq} = \mathrm{k}\, C_{eq}^{\ 1/\mathrm{n}} \qquad (۳)$$

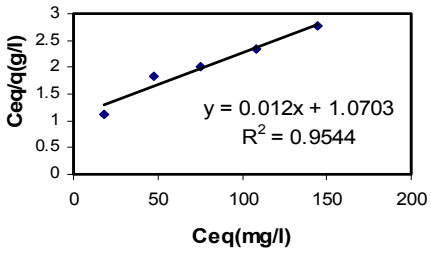
$$\ln q_{eq} = \ln k + 1/n \ln C_{eq} \qquad (۴)$$

C_{eq} مقدار غلظت باقی مانده در محلول می باشد q_{eq} برابر است با مقدار فلز جذب شده در هر گرم توده سلولی و مقادیر kو n پارامترهای جذب می باشند

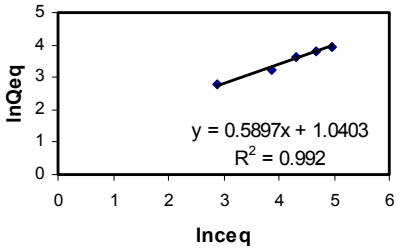
رابطه لانگمور:

$$\frac{C_{eq}}{q_{eq}} = \frac{1}{K_b A_s} + \frac{C_{eq}}{A_s} \qquad (۵)$$

نمودار ۸و۹ تبعیت نتایج به دست آمده را از معادلات لانکمور وفرندلیش نشان می دهد



نمودار ۸- ایزوترم جذب لانگمور بر روی Cr(VI) توسط آسپرژیلوس نایجر



نمودار ۹- ایزو ترم جذب فروندلیش بر روی Cr(VI) توسط آسپرژیلوس نایجر

ثابت های مدل های فرندلیش ولانگمور

مشخصات	ثابت های مدل فرندلیش			ثابت های مدل لانگمور		
آسپرژیلوس کشته شده در NaOH	n	R^2	K	K_b(1/mg)	R^2	A_s(mg/g)
	۱/۰۹۷	۰/۹۹۲	۰/۶۹۶	۰/۱۲۸	۰/۹۵۴۴	۸۳/۳۳

نتیجه گیری

جذب سطحی یکی از روش هایی است که برای حذف فلزات سنگین استفاده می شود. استفاده از میکروارگانیسم ها روشی بسیار ارزان قیمت می باشدو به علت عمل بازجذب مورد توجه صنایع بسیاری می باشدکه از جمله مزایای آن است. جذب سطحی Cr(VI) با کاهش pH افزایش پیدا می کند و با افزایش غلظت نیز افزایش می یابد. در ضمن با افزایش دما نیز با افزایش جذب مواجه هستیم. بهترین جذب مشاهده شده در۲= pH می باشد و در طی انجام آزمایش با افزایش میزان pH مواجـــه خواهیم بود. کلیه آزمایش ها از مرتبه اول پیروی می کنند.کلیه مقادیر به دست آمده از مدل های فرندلیش و لانگمور پیروی می کنند و با مقایسه مقادیر به دست آمده با آزمایش ها صورت گرفته با کمک جاذب غیر فعال شده با روش اتوکلاو و کشتن میکروارگانیسم توسط دما، با این واقعیت مواجه خواهیم بود که جوشاندن سلول های قارچ درمحیط بازی NaOH باعث افزایش کارایی و بالا رفتن جذب تا چندین برابر می شود(۱و۹) موجب می شود. بر روی دیواره سلول خلل و

Archive of SID

www.SID.ir

فرج هایی ایجاد شود که اکسی آنیون کروم در آن مکان ها قرار گیرد. یون های کرومات به چند طریق از محیط خارج می شوند.۱- از طریق تماس مستقیم با توده سلولی ۲- جذب سطحی با گروه های دارای بار مثبت ۳- کاهش Cr(VI) توسط گروه هایی که پتانسیل کاهش کمتری دارند. در طی انجام واکنش یون های Cr(VI)با کاهش یافتن به Cr(III)و از طریق جذب سطحی از محیط حذف می شوند.

مقدار درصد حذفCr(VI) بعد از ۲۴ ساعت۷۴/۶ % می باشد که در مقایسه با روش های دیگر غیر فعال کردن توده سلولی،این روش بازده بهتری را در بر دارد

منابع

1. Donghee park، Yeoung-sang Yun, Jong Moon Park (2005).Use of fungal biomass for the detoxification of hexavalent chromium:screening and kinetics. Process Biochemistry 402559-2565
2. Park،Donghee،Yeoung-sang Yun،Seong-Rin Lim،and Jong Moon Park (2006). Kinetic analysis and mathematical modeling of Cr(VI) removal in a differential reactor packed with *ecklonia* biomass.j.M icrobial.B iotechnol.16،784-790
3. Yasemin Sahin،Ayten Ozturk(1999) biosorption chromium(VI)ions from aqueous solution by the bacterium *bacillus thuringiensis* .process biochemistry 40،1895-1901
4. Holan Z.R and Volesky B.(1995)Accumulation of cadmium،lead، and nickel by fungal and wood biosorption. Appl. Biochem. Biotechnol.53،133-146
5. L.E.uef،T،prey.C.P.Kubicek(2005).bios orption of zinc by fungal mycelial wastes،applied microbiology and Biotechnology،springer،Berlin،1991،p.6 88
6. R.Sudhabai،T،EmiliaAbraham(2003).S tudies on chromium(VI) adsorption-desorption using immobilized fungal biomass. Bioresource Technology 8717-26
7. M.I.kefala،AizoubulisK.A.Matis(1999) biosorption of chromium(VI) from aqueous solution by green algae *Spirogyra*species.BY،Enviren.Pollut35، 4079-4085
8. Peters R.W.Young.K.and Bhattacharyya D(1985) evaluation of recent treatment techniques for removal of heavy metals from industrial wastewater. ALCHE symp.series 81،1605-1703
9. A.kapoor and T.Viraraghava (1998). Removal of heavy metals aqueous solutions using immobilized fungal biomass in continuous mode. Wat. Res.vol.32.no.6, pp.1968-1977
10. Y.Sag.U.Acikel،Z.aksu،T.Kutsal(1998) comparative study for the simultaneous biosorption of Cr(VI) and Fe(III) on C-vulgaris and R-arrhizus: application of the competitive adsorption models، Process Biochem .33(3) 273-281
11. Yun Y-S park JM Volesky(2001).Biosorption of trivalent chromium on the brown seaweed biomass.Environ Sci technol.35:43538
12. M.Ziagova،G.Dimitriadis،D.Aslanidou، X.Papaioam(2006)comparative study of Cd(II)and Cr(VI)biosorption on Saphylococcus Xylosus and Psudomonas sp.Bioresourse Thechnology 36.167-171.

Archive of SID

www.SID.ir