

## مقایسه جداسازی بیولوژیک فلز کادمیوم از پساب توسط باکتری باسیلوس و جلبک فوکوس سراتوس

سلمان احمدی اسب چین<sup>\*۱</sup>

[sahmadyas@yahoo.fr](mailto:sahmadyas@yahoo.fr)

ناصر جعفری<sup>۲</sup>

تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۱۸

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۲/۱۸

### چکیده

از میان مشکلات محیط زیست می توان به آلودگی محیط زیست به وسیله فلزات سنگین اشاره کرد. در این کار تحقیقی جذب فلز سنگین کادمیوم به وسیله جلبک قهوه‌ای *Fucus serratus* و جذب آن به وسیله باکتری باسیلوس گرم مثبت *Bacillus sp* مقایسه شده است. روش های بیولوژیک در مقایسه با روش های مرسوم شیمیایی و فیزیکی کارایی بالاتری دارند. در این تحقیق ایزوترم و کینتیک جذب کادمیوم به وسیله باکتری و جلبک در راکتور بسته مورد مطالعه قرار گرفته است. بر اساس معادله لانگموئیر میزان بیشینه جذب در باکتری و جلبک به دست آمده است. باکتری از پساب کارخانه فلز کاری تهران و جلبک از ساحل شهر پورنیک فرانسه جدا شده است. مطالعه کینتیک جذب کادمیوم نشان داده است، زمان تعادل برای جلبک در حدود ۲۴۰ دقیقه و برای باکتری در حدود ۱۰ دقیقه بوده است. ایزوترم جذب کادمیوم به وسیله معادله لانگموئیر تفسیر گردیده است و میزان بیشینه جذب فلز کادمیوم برای باکتری و جلبک به ترتیب ۰/۴۵ و ۰/۸۵ میلی مول بر گرم وزن خشک جاذب بیولوژیک بوده است.

**واژه های کلیدی:** جذب بیولوژیک، جلبک دریایی، باکتری، کادمیوم.

۱- دانشیار، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشگاه مازندران\* (مسئول مکاتبات).

۲- استادیار، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، دانشگاه مازندران.

## مقدمه

یکی از نگرانی های امروزی محققان و صاحبان صنایع، حفظ محیط زیست از آلودگی هایی است، که به وسیله فن آوری مدرن و صنایع ایجاد می گردد. در این میان، از مهم ترین آلاینده های محیط زیست، فلز سنگین کادمیوم است. وجود این عنصر و ترکیبات آن حتی در مقادیر بسیار کم در صنایع خطرناک است و باید تا حد امکان حذف شود؛ اما به دلیل این که روش های حذف شیمیایی و فیزیکی کادمیوم محدودیت دارند، جذب بیولوژیکی به عنوان روش مناسب برای حذف مقادیر کم فلزات سنگین از فاضلاب های صنعتی مطرح شده است. غیرقابل تجزیه بودن فلزات سنگین و تمایل آن ها به تجمع در موجودات زنده سبب شده است آن ها را از دیگر آلاینده های سمی متمایز کنند؛ بنابراین حذف فلزات سنگین از فاضلاب ها موضوع مهمی در بهداشت عمومی جامعه محسوب می شود. براساس بررسی های سازمان بهداشت جهانی (WHO) مشخص شده است که تعداد زیادی از مردم به طرق مختلف در معرض مخاطرات بهداشتی ناشی از فلزات سنگین قرار دارند (۱). حذف فلزات سنگین به صورت کلی از ۲ دیدگاه اهمیت دارد، جداسازی و خنثی کردن اثرات فلزات سنگین سمی از پساب های صنعتی، زهکش های کشاورزی و معادن واز طرفی دیگر احیا و بازیافت فلزات که با کاهش تدریجی منابع معدنی موضوعی ضروری است. مطالعات مختلف نشان داده است که روش های بیولوژیکی می تواند شرایط اقتصادی تر و کارآمدتری را در مقایسه با بسیاری از روش های فیزیکی شیمیایی فراهم کند (۲). استفاده از عوامل بیولوژیکی برای حذف و بازیافت از آب های آلوده سال ها است که در زمینه های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است.

این عمل می تواند به وسیله ترکیبات ترشح شده از سلول ها مثل انواع متابولیت های سلولی، ترکیبات پلی ساکاریدی و دیگر اجزای دیواره سلولی انجام شود. سازوکارهای جذب به وسیله سلول های مرده و زنده با هم متفاوت است و میزان جذب، ظرفیت پذیرش و تغلیظ فلزات در میکروارگانیسم های مختلف نیز یکسان نیست.

فاضلابی که به تصفیه خانه شهری می رسد، مجموع فاضلابی است که از سه منبع مختلف در شبکه فاضلاب وارد می شود. این سه منبع عبارتند از فاضلاب خانگی، نشت آب و پساب صنعتی. بنابر تعریف مجموعه فاضلاب حاصل از سه منبع را فاضلاب شهری یا فاضلاب بهداشتی خوانند. (۳)

وقتی نگرانی های انسان زیاد می شود که بدانیم روش های تصفیه فیزیکی- شیمیایی برای چنین پساب هایی نتواند با استانداردهای زیست- محیطی تطبیق کند، زیرا اغلب روش های فیزیکی- شیمیایی هنگامی که غلظت های فلز سنگین و سمی در محیط های آلوده در دامنه ۱۰ تا ۱۰۰ ppm باشد، غیر موثر و غیر اقتصادی می باشد. در حالی که غلظت های مجاز یون های فلزات سنگین بر طبق نظر EPA<sup>۱</sup> (آژانس حفاظت محیط زیست) کم تر از ۱ ppm می باشد. (۳) احمدی و همکاران در کشور فرانسه سازوکار جذب مس به وسیله جلبک قهوه ای فوکوس سراتوس را مطالعه کرده اند. (۴)

مهم ترین عوامل جذب کننده یا مکان های اتصال فلز در باکتری ها شامل کپسول ولایه چسبناک است که به عنوان یک بافر بین باکتری و محیط بیرون عمل می کند و جنس اکثر آن ها پلی ساکارید می باشد و واجد گروه های هیدروکسیل، کربوکسیل، آمین و غیره می باشد که در اتصال به فلز نقش دارند. نقش این ترکیبات در جذب بیولوژیکی میکروبی توسط محقق معروف Volesky<sup>۲</sup> اثبات شده است. (۵)

سایر روش های مرسوم جهت جداسازی فلزاتی نظیر کادمیوم، سرب، مس و نیکل که از طریق فاضلاب صنایع وارد آب و خاک می گردد عبارتند از: ته نشینی<sup>۳</sup>، اکسید و احیاء شیمیایی<sup>۴</sup>، تعویض یونی<sup>۵</sup>، اسمز معکوس<sup>۶</sup>، جداکننده های

- 1- Environmental Protection Agency
- 2- Biosorption
- 3- Precipitation
- 4- chemical oxidation or reduction
- 5- ion exchange
- 6- reverse osmosis

### مواد و روش ها

**جاذب‌های بیولوژیک** از یک طرف جلبک فوکوس سراتوس که از ساحل آتلانتیک در شهر پورنیک فرانسه جمع آوری شده است، برای جذب یون کادمیوم استفاده گردیده است. دو بار با آب معمولی سپس دو بار با آب مقطر شستشو داده شده است. در ۶۰ درجه سانتی گراد خشک شده سپس برش داده شده و در نهایت ذرات<sup>۴</sup> با قطر ۰/۳۵۵ - ۰/۵ میلی متر انتخاب و استفاده گردید است.

و از طرف دیگر آن را با باکتری باسیلوس میله ای شکل، گرم مثبت، اسپور دار *Bacillus sp strain MGL\_75* جدا شده از پساب کارخانه ذوب فلزات جنوب شهر تهران مقایسه گردیده است. برای کشت باکتری مورد نظر از محیط کشت GMS<sup>۵</sup> استفاده شده است. محیط کشت مورد استفاده آبگوشت می باشد (مطابق جدول ۱). همه آزمایش ها در آزمایشگاه دانشگاه ایلام انجام یافته است.

غشایی<sup>۱</sup>، واکنش الکترو شیمیایی<sup>۲</sup> و تبخیر<sup>۳</sup> که هر کدام واجد محدودیت هایی می باشد. (۶) و (۷) در این تحقیق میزان جذب فلز کادمیوم، به وسیله دو جاذب بیولوژیک، اولی باکتری جداسازی شده از پساب کارخانجات فلزکاری تهران و دیگری جلبک قهوه‌ای جمع آوری شده از ساحل شهر پورنیک اقیانوس آتلانتیک در کشور فرانسه مطالعه شده است. هدف از این تحقیق مقایسه حذف بیولوژیک فلز سمی کادمیوم از پساب بوسیله باکتری باسیلوس و جلبک قهوه ای فوکوس سراتوس می باشد. همچنین مقایسه ای بین دو جاذب در جذب فلز از منظر استفاده صنعتی صورت گرفت.

4- Particles  
5- Glucose mineral salts

1- membrane separation  
2- Electrochemical reaction  
3- Evaporation

جدول ۱- ترکیبات GMS استفاده شده در محیط کشت جهت کشت باکتری باسلوس.

میزان	پارامتر	میزان	ترکیب
۷	pH	۰/۰۷۵	سولفات منگنز
۳	عصاره مخمر	۰/۱	سولفات منیزیم
۲/۶۷	کلرید آمونیوم	۰/۱	کلرید کلسیم
۱۰	گلوکز	۵/۳۵	سدیم فسفات
		۰/۴	سولفات آهن

مطالعه ایزوترم جذب یون کادمیوم به وسیله باکتری در ادامه آزمایش ها ایزوترم<sup>۵</sup> جذب یون کادمیوم توسط باکتری باسیلوس و جلبک فوکوس مطالعه شده است، معادله لانگموئیر برای این منظور مورد بررسی قرار گرفته است. تفسیر ایزوترم: رابطه ایزوترم لانگموئیر به شکل هذلولی می- باشد.

$$q_e = \frac{q_m b_L C_e}{1 + b_L C_e}$$

آنالیز یون ها آنالیز یون های کادمیوم، قبل و بعد از هر آزمایش بر اساس میزان جذب آن از محلول های آبی توسط باکتری و جلبک به وسیله دستگاه اسپکترومتر<sup>۱</sup> دانشکده علوم دانشگاه ایلام اندازه گیری شده است. آزمایش های کینتیک شامل ۳ تیمار و برای هر تیمار ۱۲ زمان در نظر گرفته شده است. به عنوان نمونه در زمان ۳۰ دقیقه بعد از تماس باکتری و جلبک به طور مجزا با فلز کادمیوم ۳ نمونه برداشت شده و آنالیز گردیده است. همچنین برای آزمایش ایزوترم برای هر غلظت ۳ تیمار و در نهایت ۲۴ نمونه برای کینتیک و ۲۴ نمونه برای ایزوترم آنالیز گردیده است.

مقایسه کینتیک جذب یون کادمیوم توسط باکتری و جلبک در ادامه آزمایش های مربوط به کینتیک<sup>۲</sup> جذب کادمیوم توسط باکتری و جلبک در یک راکتور کوچک ۱ لیتری با میزان ۱ گرم از جاذب بیولوژیک انجام گرفته است. برای تنظیم pH برای باکتری در حدود ۷ ± ۰/۲ و جلبک در حدود ۵/۵ ± ۰/۲ از هیدروکسید سدیم<sup>۳</sup> و اسید کلریدریک<sup>۴</sup> استفاده شده است. در همه آزمایش ها از آب مقطر دو بار تقطیر استفاده شده است.

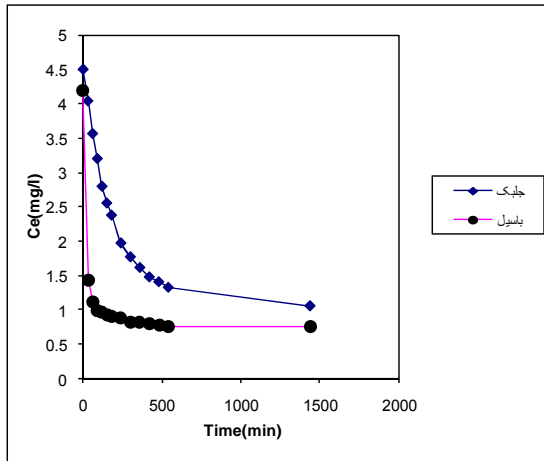
1- Atomic absorption Spectrometer ( Chem., Tech, Analytical CTA 2000)

2- Kinetic

3- NaOH

4- HCL

$C_e$	غلظت کادمیوم در محلول در حالت تعادل	(میلی مول / لیتر)
$Q_e$	غلظت کادمیوم در روی جاذب در حالت تعادل	(مول / گرم)
$Q_m$	ماکزیمم فلز جذب شده	(مول / گرم)
$b_L$	ثابت مربوط به وابستگی بین جاذب و جذب شونده	(لیتر / مول)



شکل ۱- مقایسه ایزوترم جذب یون کادمیوم توسط

باکتری و جلبک .

#### ایزوترم جذب کادمیوم به وسیله دو جاذب بیولوژیک

مطابق شکل ۲ با افزایش غلظت محیطی فلز، میزان جذب فلز کادمیوم نیز توسط باکتری افزایش می یابد.

منحنی ایزوترم در محلول واجد  $pH = 7 \pm 0.2$  محاسبه شده است، که از مدل معادله لانگموئر پیروی می کند. بیشینه میزان جذب بر اساس مدل لانگموئر (جدول ۲) برابر  $0.45$  میلی مول بر گرم می باشد.

منحنی ایزوترم تثبیت کادمیوم در آب مقطر توسط فوکوس سر/توس در محلول حاوی  $pH$  حدود  $5 \pm 0.2$  در شکل ۲ نشان داده شده است. بیشینه جذب فلز کادمیوم به وسیله جلبک در آب معمولی برابر  $0.41$  میلی مول بر گرم می باشد و علت افت جذب در آب معمولی در مقایسه با جذب فلز به وسیله جلبک در آب مقطر، به حضور  $47$  میلی گرم بر لیتر از کلسیم در آب معمولی بر می گردد که فلز کلسیم با کادمیوم برای رسیدن به گروه‌های کربوکسیلیک سطح جلبک رقابت می نماید. البته شایان توجه می باشد که این میزان جذب همچنان

به طور کلی فرضیات زیر در مورد این معادله در نظر گرفته می شود:

- تعداد جایگاه‌های جذب ثابت می باشد.
- تمامی جایگاه‌های جذب یکسان است.
- فقط یک ماده جذب شونده وجود دارد.
- یک مولکول جذب شونده با یک جایگاه فعال واکنش می دهد.

#### نتایج

##### کینتیک جذب کادمیوم به وسیله دو جاذب بیولوژیک

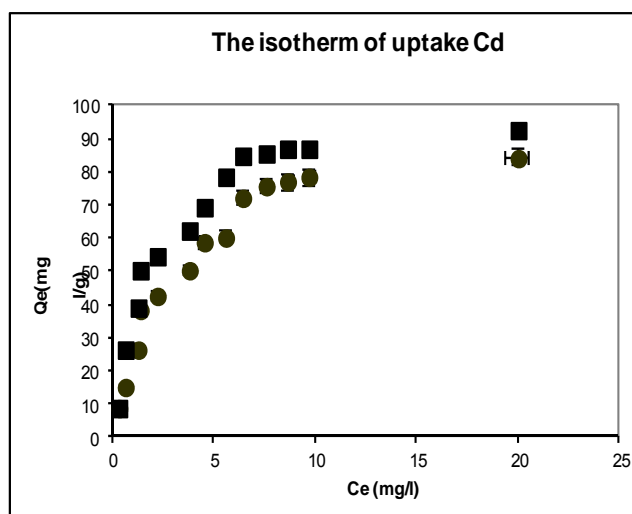
مطابق شکل ۱ ظرفیت جذب فلز کادمیوم توسط باکتری در  $10$  دقیقه اول بسیار سریع و قابل ملاحظه می باشد. این میزان می تواند مربوط به جذب غیر وابسته به متابولیسم توسط جاذب مورد نظر باشد.

با گذشت زمان، میزان جذب یون کادمیوم به وسیله باکتری، به طور خیلی کند و آرام رو به افزایش می باشد. به نظر می رسد که این مقدار از افزایش مربوط به جذب فعال کادمیوم توسط باکتری مذکور باشد که بسیار اندک است. مدت زمان تعادل جذب در حدود  $2$  ساعت می باشد.

اما کینتیک جذب یون کادمیوم به وسیله بیومس جلبک فوکوس سر/توس در  $25$  درجه سانتی گراد،  $pH$  در حدود  $5/5$  با استفاده از آب مقطر به دست آمده است. زمان تعادل در جلبک در حدود  $240$  دقیقه می باشد.

قابل ملاحظه بوده است، و می‌توان از جلبک در سطح صنعتی

استفاده نمود.



شکل ۲- مقایسه ایزوترم جذب کادمیوم در جلبک (■) و باکتری (●) ( $C_f = C_e$ )

جدول ۲ - مقایسه پارامترهای لانگموئیر در مورد ایزوترم جذب کادمیوم به وسیله جلبک و باکتری .

$r^2$	$b_L$ (L/mmol)	$q_m$ (mmol/g)	$Cd^{2+}$
۰/۹۵۹	۲۱/۶۸	۰/۴۵	باسیل
۰/۹۴۸	۲۴/۲۳	۰/۸۵۲	جلبک

#### بحث

مترشحه از باکتری در افزایش میزان جذب کادمیوم نقش مهمی را ایفا می‌کند. همچنین باکتری مورد مطالعه واجد خصوصیتی می‌باشد که آن را نسبت به دیگر باکتری‌ها متمایز می‌نماید. از مزایای این باکتری می‌توان به موارد ذیل اشاره کرد.

- رشد سریع دارد.
- چون اسپوردار است نسبت به شرایط نامساعد محیطی پایدار خواهد بود.
- تولید پلیمر خارج سلولی می‌نماید.

در این تحقیق مشخص گردید، میزان جذب فلز کادمیوم به وسیله باکتری و جلبک قهوه‌ای به ترتیب ۰/۴۵ و ۰/۸۵ میلی مول بر گرم وزن خشک جاذب بیولوژیک می‌باشد. در نتیجه میزان کارایی جذب در جلبک قهوه‌ای مورد مطالعه بیشتر می‌باشد. این افزایش بازده به حضور گروه‌های کربوکسیلیک بر روی آلژینات سطح دیواره باکتری بر می‌گردد (۱۴). سازوکار جذب از نوع تبادل یونی می‌باشد، به میزانی که فلز کادمیوم جذب می‌گردد به همان اندازه یون کلسیم و منیزیم آزاد می‌شود. اما در مورد باکتری، باکتری مذکور تولید پلیمر خارج سلولی لزجی می‌کند و نتایج حاصل نشان می‌دهد که اگر پلیمرهای

جدول ۳- مقایسه جذب یون کادمیوم به وسیله انواع جاذب های بیولوژیک شامل

جلبک قهوه‌ای، جلبک قرمز، جلبک سبز و باکتری ها.

pH	یون	بیشینه جذب (میلی مول / گرم)	منابع	جاذب بیولوژیک
۵/۵	Cd <sup>2+</sup>	۰/۸۵	این مطالعه	<i>Fucus serratus</i>
۳/۵	Cd <sup>2+</sup>	۰/۵۶	(۸)	<i>Fucus vesiculosus</i>
۴/۵	Cd <sup>2+</sup>	۰/۶۶	(۹)	<i>Sargassum filipendula</i>
۶/۰	Cd <sup>2+</sup>	۰/۶۷	(۱۰)	<i>Chondrus crispus</i>
۶/۵-۷	Cd <sup>2+</sup>	۰/۰۴	(۱۱)	<i>Palmaria palmata</i>
۶/۰	Cd <sup>2+</sup>	۰/۱۹	(۱۲)	<i>Codium vermilara</i>
۶/۰	Cd <sup>2+</sup>	۰/۲۰	(۱۳)	<i>Spirogyra insignis</i>
۳-۹	Cd <sup>2+</sup>	۱/۲۷	(۱۴)	<i>Bacillus licheniformis</i>
-	Cd <sup>2+</sup>	۰/۳۸	(۱۵)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
۷/۰	Cd <sup>2+</sup>	۰/۴۵	این مطالعه	<i>Bacillus sp.</i>

همچنین جلبک های قهوه‌ای و قرمز از سطح آب های نیلگون خلیج فارس و دریای عمان جداسازی شده و در دانشگاه ایلام با همکاری گروه بیوتکنولوژی دریا، مرکز مطالعات و پژوهش های خلیج فارس در حال انجام می‌باشد.

#### تشکر و قدردانی

این پروژه با حمایت مالی دانشگاه ایلام انجام گردید، لازم می دانیم از پروفسور پیر لوکلواغک از دانشگاه رن، دکتر ایو آندره از دانشگاه نانت، فرانسه تشکر نماییم.

با مطالعه کینیتک جذب در باکتری به این نتیجه می‌رسیم که نوع جذب دو فازی می باشد. قسمت بسیار زیادی از این جذب مربوط به فرایند غیر وابسته به متابولیسم می باشد. البته این موضوع در استفاده های صنعتی و کاربردی از این باکتری به عنوان یک مزیت تلقی می شود چرا که دیگر، محدودیت های استفاده از سلول زنده وجود نخواهد داشت. جدول ۳ مقایسه ای بین انواع جاذب های بیولوژیک کادمیوم را نشان می دهد. در نهایت به این ایده می‌رسیم که برای موارد کاربردی به نظر می‌رسد با توجه به وجود میزان زیاد جلبک های قهوه‌ای در سواحل خلیج همیشه فارس استفاده از این بیوجاذب ها مقرون به صرفه تر و با کارایی بیشتری باشد.

## منابع

- biosorptive capacity and investigation of mechanisms. *J. Coll. Inter. Sci.* 275, 131-141.
8. Gadd, G. M. & Ch.White. 1993. *Microbial Treatment of Metal Pollution a working Biotechnology?* ELSEVIER Science Publishers LTD, 11:353-359
  9. Chang J.-S., Law R. and Chang C.-C. (1997), Biosorption of Lead, Copper and Cadmium by biomass of *Pseudomonas aeruginosa PU21*. *Water Reserch*, 31, 1651\_1658
  10. Zouboulis A.I., Loukidou M.X. and Matis K.A., (2004) Biosorption of toxic metals from aqueous solutions by bacteria strains isolated from metal-polluted soils. *Process Biotechnology*. 39, 909-916
  11. Holan Z.R., Volesky, B., and Prasetyo I., (1993) Biosorption of Cd by biomass of marine algae. *Biotech Bioeng*, 41,819-825
  12. Prasher S.O., Beaugeard M., Hawari J., Bera P., Patel R.M. and Kim S.H. (2004) Biosorption of heavy metal by red algae (*Palmaria palmata*). *Environmental Technology*, 25, 1097-1106
  13. Romera E., Gonzalez F, Ballester A, Blazquez M.L. and Munoz J.A. (2008) Biosorption of heavy metal by *Fucus spiralis*. *Bioresource Technology*, 99, 4684-4693
  14. Davis T.A., Volesky B. and Vieira R.H.S.F. (2000) *Sargassum* seaweed as biosorbent for heavy metal. *Water research*, 34, 17, 4270-4278
  1. WHO (2004) *Guidelines for Drinking-Water Quality. Third Edition. Vol.1-Recommendations*, World Health Organization, Genève, Suisse
  2. Reddad, Z., Gérente, C., Andres, Y., Le Cloirec, P., 2002. Adsorption of several metal ions onto a low cost biosorbent: Kinetic and Equilibrium Studies. *Environ. Sci. Technol.* 36, 2067-2073.
  ۳. مرجان صادقی راد، غلامرضا امینی رنجبر، عما ارشد، هاشم جوشیده، بررسی فلزات سنگین (روی، مس، سرب کادمیم) در رسوبات بخش جنوب غربی دریای خزر (آستارا تاکیاشهر: انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری بخش اکولوژی: چهارمین کنفرانس سراسری زیست شناسی، دانشگاه تربیت مدرس ۷-۹ شهریور ۱۳۸۵
  4. Ahmady-asbchin S., Andres Y., Gérente C., Le Cloirec P., 2009. Natural seaweed waste as sorbent for heavy metal removal from solution. *Environmental Technology*, 30, 2009.755-762
  5. Volesky B. And H.A.May-Phillips.1995. Biosorption of heavy metal by *Saccharomyces cervisiae*. *Appl. Microbiol.Biotechnol.*40:783-797
  6. Langmuir, I., (1916). The constitution and fundamental properties of solids and liquids. *J. Amer. Chem. Soc.* 38, 2221-2295.
  7. Sheng Ping Xin, Yen-peng Ting, J.Paul Chen, Liang Hong 2004. Sorption of Lead, Copper, Cadmium, Zinc and Nickel by marine algal biomass: characterization of