



جذب زیستی تنگستن از محلولهای آبی با استفاده از سویه جدید *Bacillus sp.* MGG-83 جداسازی شده از تالاب انزلی

سعید قربانزاده مشکانی^{۱*}، فریدون ملک‌زاده^۲، حسین غفوریان^۱، محمدرضا سعودی^۳، پریسا تاجر محمدقزوینی^۳
۱. گروه بیوتکنولوژی هسته‌ای، مرکز تحقیقات هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۱۱۳۶۵-۳۴۸۶، تهران - ایران
۲. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم - ایران
۳. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه الزهراء (س)، تهران - ایران

چکیده: در این کار پژوهشی ۳۸ نمونه آب و لجن از تالاب انزلی گرفته شد. بعد از کشت نمونه‌ها و انجام مراحل خالص‌سازی، ۱۰۰ سویه باکتریایی جدا شد. ظرفیت جذب تنگستن در تمام سویه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت تنها یک سویه دارای بیشترین مقدار جذب تنگستن بود (۶۵/۴ mg/g dw). این سویه MGG-83 نامیده شد. در بررسی‌های بیشتر مشخص شد که سویه MGG-83 متعلق به جنس باسیلوس است. حداکثر جذب تنگستن در pH=۲ صورت می‌گیرد. جذب تنگستن توسط *Bacillus sp.* MGG-83 با افزایش غلظت آن افزایش یافت، تا جاییکه در غلظت ۶۰۰ mg/l جذب آن به مقدار ۵۴۵/۶ mg/g dw رسید. جذب تنگستن در ۵ دقیقه اولیه مجاورت سریع بود و در ادامه، روند کندی نشان داد. تیمار سلولها با سدیم آزید و ۲ و ۴ دی‌نیتروفل نشان داد که ۸۰٪ جذب تنگستن غیروابسته به متابولیسم و ۲۰٪ جذب آن وابسته به متابولیسم است. سلولهایی که با حرارت اتوکلاو کشته شده بودند تنها ۱۱٪ کاهش در جذب تنگستن نشان دادند. جذب تنگستن با افزایش مقدار وزن خشک توده سلولی افزایش یافت (۸۷٪ در ۲۰ mg وزن خشک توده سلولی و تقریباً ۱۰۰٪ در ۲۵ mg وزن خشک توده سلولی). محدوده دمایی ۲۰-۴۵C تأثیر چندانی بر جذب تنگستن نداشت.

واژه‌های کلیدی: جذب زیستی، تالاب انزلی، تنگستن، جنس باسیلوس، فلزات سنگین، تالاب انزلی

Biosorption of Tungsten from Aqueous Solutions by New Strain of *Bacillus sp.* MGG-83 Isolated from Anzali Lagoon

S. Ghorbanzadeh Mashkani^{1*}, F. Malekzadeh², H. Ghafourian¹, M.R Soudi³,
P. Tajer Mohammad Ghazvini^{1,3}

1- Department of Nuclear Biotechnology, Nuclear Research Center, AEOI, P.O. Box: 11365-3486, Tehran - Iran

2- Department of Microbiology, Faculty of Science, Islamic Azad University of Ghom, Ghom - Iran

3- Department of Microbiology, Faculty of Science, Azzahra University, Tehran - Iran

Abstract: In this study 38 water and sludge samples were collected from various areas of Anzali lagoon and 100 strains were isolated when the samples were cultured in the media. Among them, only one strain showed the maximum absorption capacity (65.4 mg/g dry wt). It was tentatively called MGG-83 strain. Further investigations proved that the strain MGG-83 belonged to the genus of *Bacillus*. The maximum uptake of tungsten was obtained at pH 2. The tungsten taken up by the *Bacillus sp.* MGG-83 increased by increasing the concentration of the tungsten. At 600mg/l, the uptake was 545.6 mg/g dry wt. The uptake of tungsten within 5 min of incubation was relatively rapid and the absorption continued slowly thereafter. When sodium azide and 2,4 dinitrophenol were used, it was evident the 80% of the absorbed tungsten is independent of the metabolism and 20% depends on the metabolism. When the cells were treated by the heat, the tungsten uptake decreased to 11%. The tungsten uptake increased with increasing in biomass of dry weight of the cells (87% at 20 mg biomass; 100% at 25mg biomass). The applied temperature in the range of 20-45°C did not show any significant change in the uptake.

Keywords: Biosorption, Anzali lagoon, Tungsten, *Bacillus sp.*, Heavy metals, Anzali Lagoon

*email: saeid_ghm@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۸۴/۲/۱۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۵/۱/۱۶

ریزسازواره‌ها تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است. هدف ما از این پژوهش، جداسازی ریزسازواره‌هایی از تالاب انزلی با توان جذب تنگستن به منظور حذف آن از نمونه‌های حاوی این اُکسی‌آنیون بود.

۲- مواد و روشها

تعداد ۳۸ نمونه از مناطق حفاظت شده تالاب انزلی بخش ایران گرفته شد. نمونه‌ها سریعاً به آزمایشگاه منتقل و از هر نمونه به نسبت ۱ ml به ۲۵ ml از محیط کشت TSB (Difco)^(۱) تلقیح شد و در انکوباتور همزن‌دار به مدت هفت روز در دمای ۳۰°C و هوادهی ۱۵۰ بار در دقیقه گرمادهی شد. بعد از پایان مدت گرمادهی، از هر اِرلن رقت‌های ۱۰^{-۱} - ۱۰^{-۱۰} از محیط کشت TSB تهیه و در محیط کشت TSA (Difco)^(۲) کشت داده شدند و پلیتها در انکوباتور ۳۰°C به مدت هفت روز گرمادهی شدند و بعد از پایان یافتن گرمادهی مورد بررسی قرار گرفتند، سپس کلنی باکتریها جداسازی و خالص شدند. در این مرحله ۱۰۰ سوبه باکتریائی جداسازی و خالص شدند.

۳- روش تهیه و آماده سازی توده سلولی

سلولهای باکتریائی به اِرلن‌های ۱۰۰۰ ml حاوی ۲۵۰ ml محیط کشت TSB تلقیح و در دمای ۳۰°C به مدت ۲۴ ساعت و هوادهی ۱۵۰ بار در دقیقه گرمادهی شدند. بعد از پایان مدت گرمادهی، توده سلولی به وسیله سانتریفوژ با سرعت دوران ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴°C جدا شد و با سرم فیزیولوژی (۰/۹ NaCl) سه بار شستشو داده شد. این توده سلولی مرطوب، در دمای ۴°C برای آزمایشهای بعدی بکار رفت. برای غیرفعال کردن باکتریها ابتدا توده سلولی به مدت یک ساعت با محلول ۰/۵ مولار سدیموم آزید و ۲ و ۴ دی‌نیتروفلن به صورت تعلیق در آمد، سپس شستشو داده شد تا توده سلولی غیرفعال بدست آید. همچنین از سلولهای غیرفعال شده به وسیله حرارت اتوکلاو (دمای ۱۲۱°C و فشار ۱ atm به مدت ۱۵ min) نیز استفاده شد.

از سال ۲۰۰۰ میلادی به بعد مطالعات و تحقیقات گسترده‌ای به منظور کاربرد رادیوایزوتوپهای رنیوم آغاز شده است و اکنون از رنیوم ۱۸۸ بعنوان چشمه رادیوآکتیو برای کاربردهای رادیوترایی استفاده می‌شود. منبع اولیه تولید رنیوم ۱۸۸، تنگستن بوده که تحقیقات گسترده‌ای در این مورد در حال انجام دادن است. تنگستن با عدد اتمی ۷۴، جرم مولکولی ۱۸۳/۸۵ و چگالی ۱۹/۴ گرم بر سانتی‌متر مکعب از جمله عناصر واسطه گروه شش جدول تناوبی و فلزات سنگین می‌باشد و اغلب به صورت اُکسید در طبیعت دیده شده است بنابراین در گروه اُکسی‌آنیونها طبقه‌بندی می‌شود [۱]. میزان تنگستن در طبیعت نسبتاً نادر است و پنجاه و چهارمین عنصر در پوسته زمین می‌باشد [۲]. مصرف تنگستن در صنایع به صورت‌های مختلف از جمله: کرید تنگستن، تنگستن فلزی، در ساخت آلیاژها و مواد شیمیائی می‌باشد [۳]، همچنین در سالهای اخیر از تنگستن ۱۸۸ برای تولید رادیوداروی رنیوم ۱۸۸ استفاده می‌شود [۴]. فعالیتهای انسان مانند حفر معدن، تهیه فلزات سخت، تولید کرید تنگستن و استفاده از آن و سوزاندن زباله‌های شهری و زغال‌سنگ همگی باعث وارد شدن تنگستن به محیط زیست می‌شوند [۵]. تنگستن سنگین‌ترین فلزی است که اثرهای مفیدی بر باکتری‌ها و آرکی‌ها دارد [۶ و ۷]. با وجود این، ممکن است یک عنصر برای بعضی از ریزسازواره‌ها مورد احتیاج و مفید، اما برای بعضی دیگر سمی باشد [۶]. حذف تنگستن از محیط زیست با روشهای فیزیکی و شیمیائی اغلب غیر مؤثر و پرهزینه است، و باعث ایجاد مشکلات زیست محیطی می‌شود. بنابراین یافتن فناوری جداسازی که ارزان و مؤثر بوده و اثرهای سوء زیست محیطی نداشته باشد لازم و ضروری است [۸]. این فناوری جدید، جذب زیستی فلزات می‌باشد که اساس آن اتصال کاتیون یا آنیون فلزی به مکانهای اتصال مواد زیستی مانند کپسول، جدار سلولی، پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی، پروتئین‌های سلولی و غیره است [۹]. در سال ۱۹۵۰ سعی شد تا از ریزسازواره‌های مختلف برای جذب فلزات گرانبها مانند طلا و نقره و مس بهره گیرند. در سال ۱۹۸۰ میلادی و بعد از آن از این فناوری برای حذف فلزات سنگین و سمی از پسابها به منظور حفاظت از محیط زیست استفاده شد [۱۰]. بر خلاف فلزات مختلف، حذف اُکسی‌آنیون تنگستات به وسیله جذب زیستی در

۵۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم برلیتر) اضافه شد و در دمای 30°C به مدت ۹۰ دقیقه و هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه گرمادهی شد. بعد از پایان مدت مجاورسازی، توده سلولی به وسیله سانتریفوژ جدا شده و مقدار تنگستن جذب شده توسط سلولها، اندازه گیری شد.

۳-۵ اثر زمان تماس و نوع جذب

برای این منظور، 300mg وزن تر باکتریهای فعال و غیرفعال به طور جداگانه به 30ml محلول فلزی تنگستن به غلظت 300mg/l ، در ارلنهایی به حجم 150ml اضافه و در دمای 30°C و هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه در زمانهای متفاوت گرمادهی شد. در پایان هر زمان جذب، سلولها جدا و مقدار تنگستن اندازه گرفته شد.

۴-۵ اثر مقدار توده سلولی

با اضافه کردن مقادیر مختلف توده سلولی (100mg - 2 وزن خشک توده سلولی) به 30ml محلول فلزی تنگستن، اثر مقدار «توده سلولی» در شرایط بهینه بررسی شد.

۵-۵ سنجش تنگستن

مقدار تنگستن، به روش سینتیک اسپکتروفوتومتری، در اثر تولید ترکیب آبی رنگ تنگستن دیتیول بدست آمد [۱۲].

۶- یافته‌ها و نتایج

در سالهای اخیر، جذب زیستی به طور وسیع و دامنه‌داری مورد توجه محققان قرار گرفته است، زیرا ریزسازواره‌ها پتانسیل جذب کردن فلزات سنگین و سمی را از مکانهای آلوده و پسابهای صنعتی و فاضلابها دارند [۸]. عمل تنگستن به عنوان یک عنصر ضروری برای بعضی از باکتریها و آرکی‌ها به طور کامل شناخته شده [۱]، اما تاکنون جذب آن با روشهای زیستی مورد توجه قرار نگرفته است. در این کار پژوهشی نمونه‌برداری از مکانهایی در تالاب انزلی ایران صورت گرفت که محدوده دمایی آنها از $21/6$ تا $23/5$ درجه سانتی‌گراد و محدوده pH آنها از $6/6$ تا $7/8$ بود. بعد از کشت نمونه‌ها در محیط کشت، تعداد 100 باکتری جدا شد که بر اساس واکنش در رنگ‌آمیزی گرام و تأیید آن با تست KOH به دو گروه گرام مثبت و گرام منفی تقسیم شدند؛ قابلیت جذب تنگستن در همه 100 سویه باکتری جدا شده، در مجاورت با تنگستن اندازه‌گیری شد تا سویه‌ای با

۴- گزینش سویه‌ای با توان جذب بالا به منظور استخراج تنگستن به روش جذب زیستی

برای این منظور 300mg باکتری تر به 30ml محلول فلزی تنگستن با غلظت 300mg/l و با $\text{pH}=5$ در ارلنهایی به حجم 150ml ، اضافه شد و در دمای 30°C به مدت ۹۰ دقیقه و هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه گرمادهی شد (آزمایشها به صورت سه بار تکرار برای هر غلظت بود). در تمام مراحل، محلولهای بدون فلز و حاوی سلول و محلولهای فلزی بدون سلول به عنوان شاهد وجود داشته و همه اعمال انجام شده بر روی نمونه‌ها، بر روی نمونه‌های شاهد هم اعمال شد تا از ورود یا خروج احتمالی تنگستن در نمونه‌ها اطلاع حاصل شود. بعد از پایان مرحله جذب، سلولها به وسیله سانتریفوژ با 10000 دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در 4°C جدا شدند. مقدار تنگستن موجود در محلول رویی و توده سلولی هضم شده در مخلوط اسید نیتریک و اسید پرکلریدریک، توسط روش اسپکتروفوتومتری اندازه‌گیری شد. سرانجام مشخص شد که یک سویه دارای بیشترین جذب تنگستن است و آن بر اساس ویژگیهای شکلی و بیوشیمیایی موجود در کتاب مرجع Bergey Manual of Systematic Bacteriology, *Bacillus* sp. MGG-83 نامگذاری شد [۱۱].

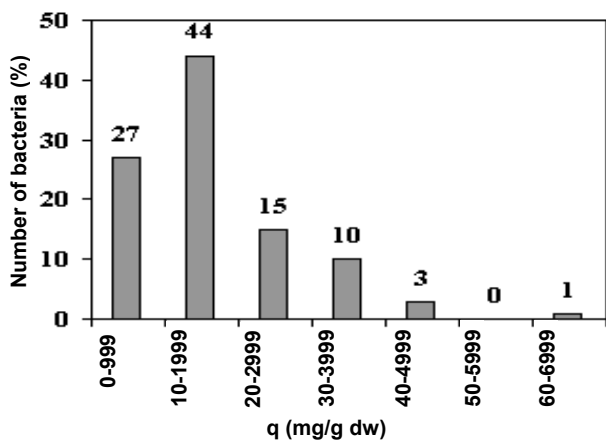
۵- مطالعه مراحل بهینه‌سازی جذب تنگستن

۱-۵ اثر pH بر جذب تنگستن توسط *Bacillus* sp. MGG-83

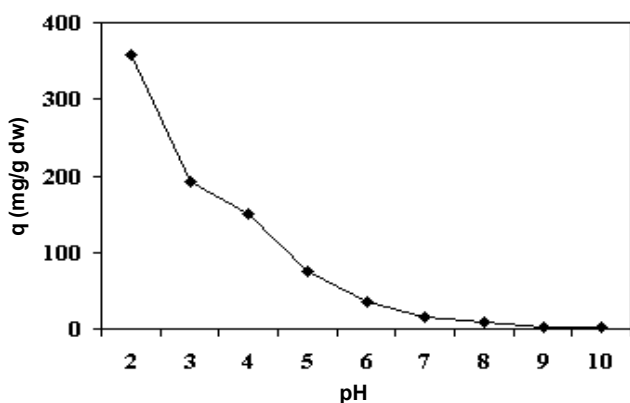
در پی آزمایش اولیه، یک سویه با جذب بالای تنگستن نسبت به سویه‌های دیگر در غلظت 300mg/l شناسایی شد که متعلق به جنس باسیلوس بود. برای تعیین pH بهینه، محلولهای فلزی حاوی 300mg/l تنگستن با pH به ترتیب ۲ تا ۱۰ تهیه شد. پس از آماده کردن محلولها، 300mg باکتری تر، که از کشت ۲۴ ساعته همانند پیشین تهیه شده بود، به 30ml محلول فلزی اضافه شد و در دمای 30°C به مدت ۹۰ دقیقه و هوادهی ۱۵۰ بار در دقیقه گرمادهی شد. پس از پایان مدت گرمادهی، نمونه‌ها سانتریفوژ (10000 دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، در دمای 4°C) شدند و مقدار جذب تنگستن اندازه‌گیری شد.

۲-۵ اثر غلظت‌های محیطی تنگستن

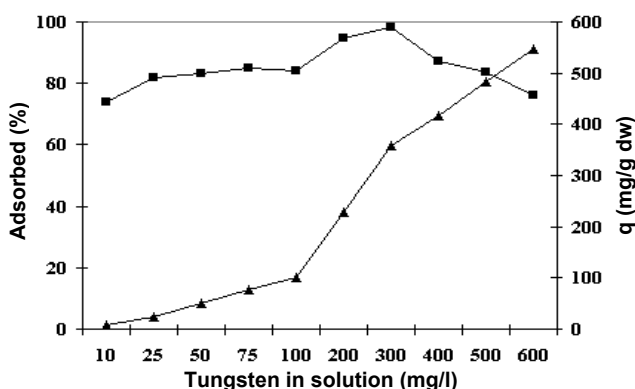
300 میلی گرم توده سلولی تر به 30 میلی‌لیتر محلولهای فلزی تنگستن (با غلظت‌های ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰،



شکل ۱- درصد تعداد باکتریها (دما برابر با 30°C ، غلظت تنگستن برابر با 300 میلی گرم برلیتر، pH برابر با 5 ، زمان مجاورت 90 دقیقه و هوادهی 150 دور در دقیقه).



شکل ۲- اثر pH بر جذب تنگستن توسط *Bacillus sp. MGG-83* (دما برابر با 30°C ، غلظت تنگستن برابر با 300 میلی گرم برلیتر، زمان مجاورت 90 دقیقه و هوادهی 150 دور در دقیقه).

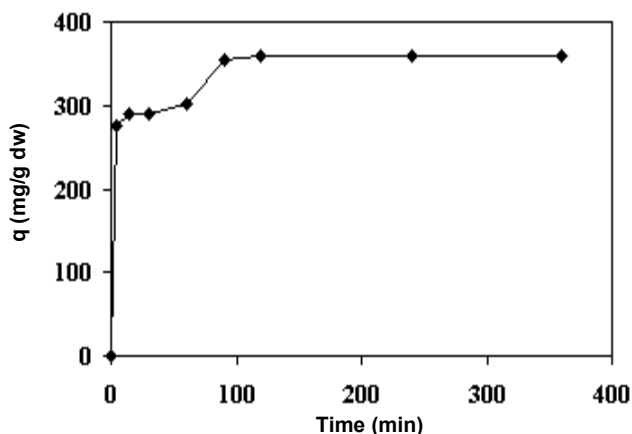


شکل ۳- اثر غلظت تنگستن موجود در محیط بر جذب تنگستن توسط *Bacillus sp. MGG-83* (pH برابر با 2 ، دما 30°C ، زمان مجاورت 90 دقیقه و هوادهی 150 دور در دقیقه، ■ نشان دهنده درصد جذب تنگستن و ▲ نشان دهنده مقدار جذب ویژه تنگستن است).

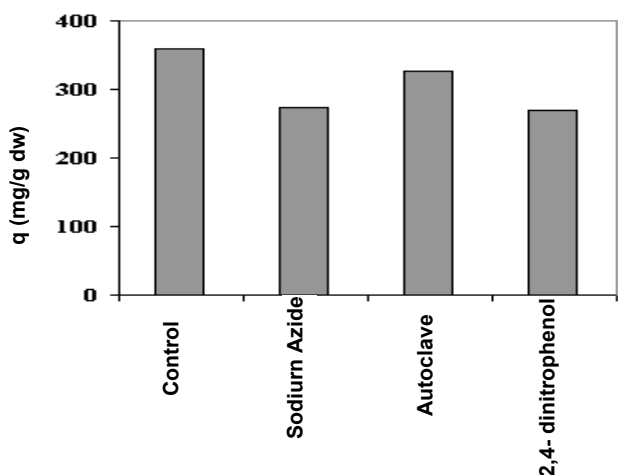
بیشترین توان جذب جداسازی شود و بر همین اساس باکتریها دسته‌بندی شدند که عبارتند از $(0-9/99)$ ، $10-60/99$ ، $20-29/99$ ، $30-39/99$ ، $40-49/99$ ، $50-59/99$ و $60-69/99$ ، و فراوانی باکتریها در این گروهها به ترتیب برابر با 27 ، 44 ، 15 ، 10 ، 3 ، 0 و 1 درصد می‌باشد (شکل ۱). همان‌گونه که در این شکل مشاهده می‌شود، یک سویه دارای بیشترین مقدار جذب تنگستن است که بر اساس ویژگیهای شکلی و بیوشیمیایی موجود در کتاب مرجع «Bergey Manual of Systematic Bacteriology» آن را به *Bacillus sp. MGG-83* نامگذاری کرده‌ایم [۱۱]. مقدار جذب تنگستن این سویه برابر با $65/4$ mg/g dw است. بنابراین از این سویه در آزمایشهای بهینه‌سازی جذب استفاده شد.

بطوریکه که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، ظرفیت جذب *Bacillus sp. MGG-83* در نه pH با اختلاف یک واحد بررسی شد. ظرفیت جذب این سویه در pH کمتر از پنج (pHهای ۲، ۳ و ۴) بسیار زیاد و در $\text{pH}=2$ جذب تقریباً کامل و صددرصد بود اما با افزایش pH جذب کاهش یافت تا جایی که در pHهای ۹ و ۱۰ تقریباً به صفر نزدیک شد. این نتایج نشان می‌دهند که جذب تنگستن با افزایش و کاهش رابطه معکوس دارد. جدار سلولی شامل گروههای بارداری است که با تغییر pH محیط تغییر بار می‌دهند. افزایش pH باعث افزایش بار منفی دیواره سلول و در نتیجه افزایش در مقدار جذب کاتیونها می‌شود اما هنگامیکه pH محیط کاهش می‌یابد بار مثبت به دیواره سلول القاء می‌شود که باعث افزایش میزان جذب اُکسی‌آنیونها می‌گردد [۱۳].

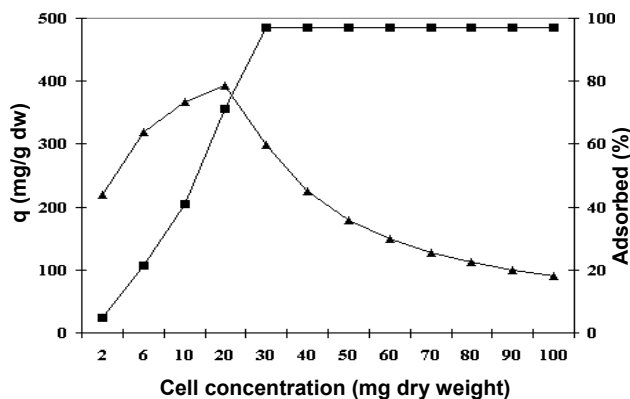
جذب تنگستن توسط *Bacillus sp. MGG-83* بطوری که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت تنگستن افزایش یافت، و در غلظت 600 mg/l به $545/6$ mg/g dry رسید. شکل ۳ همچنین نشان‌دهنده درصد جذب تنگستن توسط *Bacillus sp. MGG-83* همان‌گونه که مشاهده می‌شود تنگستن به طور کامل و تقریباً صددرصد در غلظت 300 میلی گرم برلیتر جذب سلولها می‌شود و در غلظت‌های بیشتر، دوباره مقدار تنگستن در محلول مجاورسازی مشاهده شد. با افزایش غلظت تنگستن، مقدار جذب ویژه توسط سلولها افزایش می‌یابد، اما در غلظت‌های بالاتر از 300 mg/l کارایی توده سلولی کاهش یافته و درصد جذب تنگستن کاهش می‌یابد. این نتایج با نتایج به دست آمده توسط مارکوس و همکارانش در سال ۱۹۹۱ که درباره جذب اورانیوم در سودوموناسها بود مطابقت دارد [۱۴].



شکل ۴- اثر زمان تماس بر جذب تنگستن توسط *Bacillus sp. MGG-83* (pH برابر با ۲، غلظت تنگستن ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر، دما ۳۰°C و هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه).



شکل ۵- اثر مهارکننده‌های متابولیسی سدیموم آزید، اتوکلاو و ۲ و ۴ دی‌نیتروفلن بر روی جذب تنگستن توسط *Bacillus sp. MGG-83* (pH برابر با ۲، غلظت تنگستن برابر با ۳۰۰ mg/l، دما برابر با ۳۰°C و هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه).



شکل ۶- اثر مقدار توده سلولی بر جذب تنگستن توسط *Bacillus sp. MGG-83* (pH برابر با ۲، غلظت تنگستن برابر با ۳۰۰ mg/l، دما برابر با ۳۰°C، زمان مجاورت ۹۰ دقیقه و هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه، ■ نشان‌دهنده درصد جذب تنگستن و ▲ نشان‌دهنده مقدار جذب ویژه تنگستن می‌باشد).

در بررسی سینتیک جذب، بطوری که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، تقریباً ۷۶٪ تنگستن در ۵ دقیقه اولیه مجاورت، جذب سلولها می‌شود. این جذب مربوط به جذب سطحی تنگستن است. این جذب با روندی کند ادامه می‌یابد که به واسطه جذب فعالانه فلز می‌باشد. بررسی‌های بیشتر نشان داد، سلولهایی که از لحاظ سوخت و ساز غیرفعال شده‌اند (تیمارهای سدیموم آزید، ۲ و ۴ دی‌نیتروفلن و اتوکلاو) در مقایسه با نمونه شاهد که تحت تأثیر هیچکدام از تیمارها قرار نگرفته بود، در میزان جذب تنگستن حدود ۲۰ درصد (تیمارهای سدیموم آزید، ۲ و ۴ دی‌نیتروفلن) و ۱۱ درصد (اتوکلاو) کاهش نشان می‌دهند. بنابراین در این باکتری حدود ۲۰ درصد جذب، فعال و حدود ۸۰ درصد آن به صورت غیرفعال است (شکل ۵). البته تفاوتی که در مورد تیمار با اتوکلاو و دیگر تیمارها مشاهده می‌شود به دلیل افزایش محل‌های اتصال فلز به سلول می‌باشد که در اثر گرما و اتوکلاو کردن سلولها، در سطح آنها به وجود می‌آید. گرما باعث غیرطبیعی شدن دیواره و غشاء سلولی شده و در نتیجه سبب می‌شود که مکانهای اتصال بیشتر در مجاورت فلز قرار گیرند و جذب در این سلولهای غیرفعال شده بیشتر از دو تیمار دیگر می‌شود، اما در مقایسه با سلولهای فعال جذب کاهش می‌یابد [۱۵].

نتیجه آزمایشهای بعدی که به منظور تعیین بیشترین مقدار جذب ویژه فلز به عمل آمدند، نشان داد هنگامیکه مقدار توده سلولی برابر با ۲۰ میلی گرم وزن خشک توده سلولی باشد این مقدار حاصل می‌شود که برابر ۳۹۲/۲ mg/g dw است. در این غلظت سلولی جذب کامل تنگستن حاصل نمی‌شود و در نمونه هنوز ۱۳ درصد تنگستن قابل ردیابی بوده و تنها ۸۷ درصد تنگستن جذب گردیده است. جذب کامل تنگستن را می‌توان از ۲۵ میلی گرم وزن خشک سلول به بالا مشاهده کرد. بطوری که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، با وجود اینکه افزایش غلظت سلول در محلول مجاورسازی باعث افزایش جذب کلی تنگستن می‌گردد، اما باعث کاهش جذب در هر سلول نیز می‌شود (جذب ویژه). افزایش مقدار توده سلولی باعث افزایش مکانهای اتصال موجود در محلول و در نتیجه افزایش جذب تنگستن می‌شود. هنگامیکه سلولها از یکدیگر جدا باشند، جذب فلز افزایش می‌یابد. وقتی تعداد باکتریها در محلول افزایش یابد، تمایل به

سلولهای تیمار شده با سدیم آزید و ۲ و ۴ دی‌نیتروفنل، مشخص شد که ۲۰٪ از فرایند جذب تنگستن مربوط به جذب فعالانه فلز است.

افزایش توده سلولی باعث افزایش درصد جذب یا جذب کلی تنگستن می‌شود تا جائیکه در غلظت سلولی ۲۵ میلی‌گرم وزن خشک باکتری، با جذب تقریباً کامل تنگستن روبرو می‌شویم. به طور کلی جذب زیستی پدیده‌ای برگشت‌پذیر است که هیچ‌گونه آسیبی به توده سلولی وارد نمی‌سازد بنابراین از توده سلولی می‌توان چندین بار استفاده کرد. این روش ممکن است همانند دیگر کارهایی که بر روی حذف آلودگیهای فلزی به وسیله جذب زیستی انجام شده است، یک روش ارزان، مؤثر و کارآمد برای جذب تنگستن از نمونه‌های حاوی تنگستن باشد. *Bacillus sp. MGG-83* در بین ۱۰۰ سویه باکتریائی این ویژگی را دارد و باید آزمایشهای بیشتری برای شناخت کامل ویژگیهای بیوشیمیایی و جذبی آن انجام داد.

پی‌نوشت‌ها:

- 1- Trypticase Soy Broth
- 2- Trypticase Soy Agar

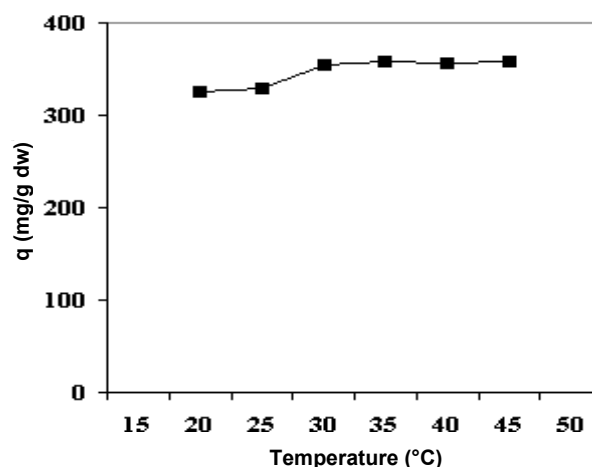
تجمع می‌یابند، در نتیجه باعث کاهش مکانهای فعال اتصال شده و توان جذب فلز کاهش می‌یابد [۱۶].

بررسیهای بعدی که در محدوده دمایی $20-45^{\circ}\text{C}$ انجام گرفت، نتایج حاصل نشان داد که دما تأثیر چندانی بر جذب تنگستن ندارد (شکل ۷).

۲- بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش ۱۰۰ سویه باکتریایی جداسازی شدند که در غربال‌گری اولیه تنها یک باکتری نسبت به دیگر سویه‌ها دارای بالاترین توان جذب تنگستن بود و بر اساس ویژگیهای شکلی و بیوشیمیائی موجود در کتاب مرجع *Bacillus sp. MGG-83*. Bergey Manual of Systematic Bacteriology نامگذاری شد [۱۱].

در مراحل بهینه‌سازی جذب مشخص شد که توان جذب *Bacillus sp. MGG-83* در pHهای اسیدی افزایش می‌یابد و در pHهای قلیایی و خنثی بطور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد و در $\text{pH}=2$ بیشترین مقدار جذب حاصل می‌شود. میزان جذب تنگستن در *Bacillus sp. MGG-83* تحت تأثیر غلظتهای محیطی تنگستن قرار می‌گیرد، اما جذب تقریباً کامل تنگستن در غلظت 300 mg/l تنگستن مشاهده می‌شود. بیشترین مقدار جذب تنگستن در ۵ دقیقه اولیه مجاورت صورت گرفت که مربوط به جذب سطحی آن است و با بررسی جذب تنگستن توسط



شکل ۲- اثر دمای محیط بر جذب تنگستن توسط *Bacillus sp. MGG-83* (pH برابر با ۲، غلظت تنگستن برابر با ۳۰۰ میلی‌گرم برلیتر، زمان مجاورت ۹۰ دقیقه و هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه).

References:

1. N.P. L'vov, A.N. Nosikov, A.N. Antipov, "Tungsten containing enzymes," *Biochemistry (Moscow)*. **67**, 196-200 (2002).
2. H.T. Evans, F.T. Manheim, S. Landegren, Molybdenum. In: "Handbook of Geochemistry," (Wedepohl, K.H., Ed.), Vol.11/5, Chapter 42. Springer Verlag, Berlin, New York (1974).
3. M.J. O'Neil, A. Smith, P.E. Heckelman, In: "The Merck index. An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals," Whitehouse Station, NJ: Merck Research Laboratories, 1748 (2001).
4. J. Vucina and R. Han, "Production and therapeutic use of rhenium-186, 188 the future of radionuclides," *Med Pregl*. **56**, 362-365 (2003).
5. W. Sahle, S. Krantz, B. Christensson, "Preliminary data on hard metal workers exposed to tungsten oxide fibers," *Sci Total Environ*. **191**, 153-167 (1996).
6. L.P. Wackett, A.G. Dodge, L.B.M. Ellis, "Microbial Genomics and the Periodic Table," *Appl and Environ Microbiol*. **70**, 647-655 (2004).
7. D.H. Nies, "Microbial heavy-metal resistance," *Appl Microbiol Biotechnol*. **5**, 730-750 (1999).
8. A.I. Zouboulis, M.X. Loukidou, K.A. Matis, "Biosorption of toxic metals from aqueous solutions by bacteria strains isolated from metal-polluted soils," *Process Biochemistry*. **39**, 909-916 (2004).
9. B. Volesky, "Biosorbent Materials," *Biotechnol. Bioeng. Symp*. **16**, 121-126 (1986).
10. N. Liu, J. Liao, S. Luo, Y. Yang, J. Jin, T. Zhang, P. Zhao, "Biosorption of ^{241}Am by immobilized *Saccharomyces cerevisiae*," *J. Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. **258**, 59-63 (2003).
11. J.G. Holt, N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, S.T. Williams, "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", Vol. 1-4. Williams and Wilkins, Baltimore (1989).
12. E.P. Welsch, "A rapid geochemical spectrophotometric determination of tungsten with dithiol," *Talanta*. **30**, 876-878 (1983).
13. A. Lopez, N. Lazano, J.M. Priego, A.M. Marqus, "Effect of pH on the biosorption of Nickel and other heavy metals by *Pseudomonas fluoresces* 4F39," *J. Industrial. Microbiol & Biotechnol*. **24**, 146-151 (2000).
14. A.M. Marqus, X. Roca, M.D. Simon-Pujuol, M.C. Fuste, F. Congregado, "Uranium accumulation by *Pseudomonas* sp. EPS 5028," *Appl. Microbiol. Biotechnol*. **35**, 406-410 (1991).
15. M.P. Pons and M.C. Fuste, "Uranium uptake by immobilized cell of *Pseudomonas* strain EPS 5028," *Appl. Microbiol. Biotechnol*. **39**, 661-665 (1993).
16. N. Goyal, S.C. Jain, U.C. Banerjee, "Comparative studies on the microbial adsorption of heavy metals," *Advances in Environmental Research* 17-7, 311-319 (2003).