فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها
سال اول، شماره ۱، بهار ۱۳۹۱، صفحه ۴۷-۵۶
تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۳/۱۸ – تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۷/۱۸

بررسی شاخص‌های جذب نیکل به وسیله *سودوموناس* و *باسیلوس*

سلمان احمدی اسبچین: استادیار میکروبیولوژی صنعتی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران، sahmadyas@yahoo.fr*
ناصر جعفری: استادیار زیست‌شناسی، دانشگاه مازندران، مازندران، ایران، n.jafari@umz.ac.ir

چکیده

مقدمه: از مهم‌ترین آلاینده‌های زیست محیطی می‌توان به فلزات سنگین اشاره کرد، که به علت پایداری بالا در محیط و حضور مقادیر بالایی از آن‌ها در پساب کارخانجات، تصفیه آن‌ها ضروری است.

مواد و روش‌ها: دراین تحقیق از باکتری *سودوموناس* *Pseudomonas* sp. که از *پساب* شهرک صنعتی ایلام جدا شد، به عنوان نمونه ای از باکتری گرم منفی، و باکتری *باسیلوس* *Bacillus* sp. که از خاک بیابان مرانجاب کاشان جدا شد، به عنوان نماینده باکتری‌های گرم مثبت در جذب زیستی نیکل از محلول آبی در رآکتور بچ استفاده شد.

نتایج: در این تحقیق، عواملی مانند میزان بیشینه جذب نیکل، اثر اسیدیته محلول فلزی و تکرارپذیری جذب فلز، به‌وسیله *سودوموناس* و *باسیلوس* مطالعه و مشخص شد، زمان تعادل جذب نیکل به‌وسیله *باسیلوس* در حدود ۱۰ دقیقه است. بیشینه میزان جذب فلز به‌وسیله باکتری مذکور ۰/۷۱ میلی‌مول بر گرم وزن خشک سلول است.

بحث و نتیجه‌گیری: میزان جذب نیکل به‌وسیله *سودوموناس* در حدود ۰/۱۲ میلی‌مول بر گرم وزن خشک توده سلولی و زمان تعادل در حدود پنج دقیقه بود. از بین عوامل رهاساز، بهترین عامل جداکننده فلز نیکل از سطح باکتری‌ها در *باسیلوس*، اتیلن دیامین ترا استیک اسید و در *سودوموناس*، نیتریک اسید شناخته شد. این نتایج نشان داد، باکتری گرم مثبت *باسیلوس* گزینه مناسب‌تری برای حذف فلز نیکل از محلول‌های آلوده است.

واژه‌های کلیدی: *سودوموناس*، *باسیلوس*، نیکل، جذب زیستی، ایزوترم

---

* نویسنده مسؤول مکاتبات

مقدمه

از کارخانجات آب‌کاری فلزات، پلاستیک‌سازی، کودهای شیمیایی، رنگ و رزین، معدن‌کاری، فلزکاری و پتروشیمی، فلزات سمّی وارد محیط زیست شده، باعث آلودگی آب‌ها می‌شود. در غلظت‌های پایین، فلزات می‌توانند به‌عنوان اجزایی مهم در فرآیندهای زیستی نقش داشته باشند و اغلب عملکردهای مهمی در تولید آنزیم دارند. با این حال، در غلظت‌هایی فراتر از حد خاص، فلزات می‌توانند برای بسیاری از گونه‌ها سمّی باشند. آلاینده‌های فلزات سنگین به سبب اثرات سمّی‌شان نقش مهمی در مسایل زیست محیطی ایفا می‌کند و تجمع‌شان در زنجیره غذایی به مشکلات جدی برای اکولوژی و سلامت منجر می‌شود. بنابراین، حذف فلزات سنگین از فاضلاب‌ها موضوع مهمی در بهداشت عمومی جامعه محسوب می‌شود. عموماً جداسازی فلزات سنگین از دو دیدگاه اهمیت دارد: جداسازی و خنثی کردن اثرات فلزات سنگین سمّی از پساب‌های صنعتی، زهکشی‌های کشاورزی و معادن و از طرفی دیگر، احیا و بازیافت فلزات با کاهش تدریجی منابع معدنی موضوعی ضروری است. پژوهش‌های مختلف نشان داد که روش‌های زیستی جداسازی فلزات سمّی می‌توانند شرایط اقتصادی بهینه و کارآمدی را در مقایسه با سایر روش‌های فیزیکی شیمیایی فراهم کنند. در چند دهه اخیر، استفاده از عوامل زیستی برای حذف و بازیافت فلزات سمّی از آب‌های آلوده بررسی شده است. در جاذب‌های زیستی، تمام یون‌های فلزی قبل از دسترسی به غشای پلاسمایی و سیتوپلاسم باید از دیواره سلولی عبور کنند و چون دیواره سلولی حاوی پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌های مختلفی است، در نتیجه، جایگاه‌های فعال مختلفی وجود دارد که قابلیت اتصال با یون‌های فلزی را دارند (۱).

فرآیند جذب در باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی به علت تفاوت در ساختار غشا و دیواره با هم تفاوت دارند. دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی ضخامت کمتری نسبت به باکتری‌های گرم مثبت دارد، در نتیجه، در باکتری‌های گرم منفی جایگاه‌های اتصال محکمی وجود ندارد. ساختار غشای بیرونی باکتری‌های گرم منفی متشکل از لیپوپلی‌ساکارید، فسفولیپید و پروتئین است (۲ و ۳)، در حالی‌که دیواره باکتری‌های گرم مثبت با داشتن گلیکوپروتئین بیش‌تر در سطح خارجی خود نسبت به باکتری‌های گرم منفی پتانسیل بیش‌تری برای جذب زیستی فلزات سنگین دارد (۴) .

تحقیقات گسترده ای در رابطه با جذب فلزات سنگین به‌وسیله باکتری‌ها صورت گرفته است. از آن جمله، سلطان[1] در سال ۲۰۰۱ از باکتری *سودوموناس آئروژینوزا*[2] برای حذف فلزات سرب، کادمیوم، جیوه، روی، نقره و مولیبدن استفاده کرده است (۵). همچنین، کوکئی و آزارد[3] از باکتری *سودوموناس سینژری*[4] که دارای بالاترین میزان جذب برای فلز مس است، استفاده کردند. میزان جذب مس در این باکتری معادل ۱۲۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک سلول بوده است (۶). از *باسیلوس* تثبیت شده (۷)، و جلبک قرمز *پاماریا پاماتا*[5] (۸ و ۹) برای حذف فلزات سنگین، از جمله نیکل استفاده شد.

هدف از این تحقیق، استفاده از باکتری‌های *باسیلوس*[6]، *سودوموناس*[7] برای جذب زیستی فلز نیکل در رآکتور بسته[8] بوده است. در این پژوهش، علاوه بر بررسی کینتیک و ایزوترم جذب نیکل به‌وسیله باکتری گرم مثبت و گرم منفی به این سؤالات پاسخ داده خواهد شد: جذب فلز نیکل با گذشت زمان چگونه خواهد بود؟

با افزایش میزان غلظت فلز نیکل، میزان جذب چه تغییری پیدا خواهد کرد؟ میزان اسیدیته محلول چه تأثیری روی میزان جذب دارد؟ چه میزان از جذب فلز در باکتری وابسته به متابولیسم بوده و جذب فعال است و چه میزان از جذب غیر وابسته به متابولیسم و جذب غیر فعال است؟ در نهایت نیز، مکانیسم جذب در دو باکتری مطالعه می‌شود.

مواد و روش‌ها

توده سلولی

در این تحقیق، از دو باکتری استفاده شد: نخست باکتری *سودوموناس* میله‌ای شکل، گرم منفی، متحرک، که از پساب کارخانه‌های شهرک صنعتی ایلام (رودخانه چوار) جدا شد. میکروارگانیسم بعدی، باکتری میله‌ای شکل، گرم مثبت، اسپوردار *Bacillus* sp که از خاک بیابان مرنجاب کاشان جدا شد. این باکتری‌ها با استفاده از آزمایش‌های تشخیصی ساده، شامل: آزمایش گرم، تولید اسپور، احیای نیترات، تولید کاتالاز، استفاده از سیترات و فرمانتاسیون لاکتوز، مالتوز و دکستروز شناسایی شده است (۱۳).

مواد و محیط‌های کشت

در انجام این تحقیق برای کشت باکتری *باسیلوس* از محیط کشت GMS[۹] استفاده شده است. محیط کشت مورد استفاده آبگوشت بود. ترکیبات مورد استفاده در این محیط کشت شامل سولفات منگنز (۰/۰۷۵ گرم بر لیتر)، کلرید کلسیم (۰/۱ گرم بر لیتر)، سولفات منیزیم (۰/۱ گرم بر لیتر)، گلوکز (۱۰ گرم بر لیتر)، سدیم فسفات (۵/۳۵ گرم بر لیتر)، عصاره مخمر (۳ گرم بر لیتر)، کلرید آمونیوم (۲/۶۷ گرم بر لیتر)، و سولفات آهن (۰/۴ گرم بر لیتر) بود و از محلول فلزی کلرید نیکل ۶ آبه استفاده شد.

اندازه‌گیری فلز نیکل

اندازه‌گیری یون فلزی نیکل قبل و بعد از هر آزمایش به‌وسیله دستگاه جذب اتمی[۱۰] اسپکترومتر صورت گرفته است. با تعیین استانداردهای این فلز، محلول‌های فلزی نیکل رقیق و به‌وسیله لامپ نیکل توسط دستگاه جذب اتمی میزان فلز در محلول تعیین شد (۱۱).

کینتیک جذب فلز نیکل توسط *سودوموناس* و *باسیلوس*

برای انجام این کار از آزمایش‌های مربوط به کینتیک جذب یون نیکل توسط باکتری در یک رآکتور کوچک ۱ لیتری، در دمای محیط آزمایشگاه، با میزان ۱ گرم از باکتری‌ها استفاده شد. برای تنظیم اسیدیته در حدود ۰/۲±۵ از هیدروکسید سدیم[۱۱] و کلریدریک اسید[۱۲] استفاده شد. کشت ۲۴ ساعته باکتری، با آب مقطر بدون یون شستشو و سپس یک گرم بیوماس باکتری‌ها با محلول فلزی نیکل تیمار شد و میزان جذب در زمان‌های مختلف بررسی شد. در زمان‌های مختلف تماس ۰، ۵، ۸۰، ۱۵۰، ۲۵۰، ۱۲۵۰ و ۱۴۰۰ دقیقه از ارلن حاوی باکتری نمونه‌برداری شد و از فیلتر سر سرنگی ۰/۴۵نانومتر برای فیلترکردن نمونه‌ها استفاده شد. آن‌گاه میزان فلز نیکل در محلول به‌وسیله دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری و میزان جذب بررسی شد.

ایزوترم جذب فلز نیکل به‌وسیله باکتری

برای انجام ایزوترم جذب سطحی، از غلظت اولیه فلز سنگین نیکل بین ۱ تا ۷ میلی‌مولار استفاده شد. این غلظت فلز با توده سلولی باکتریایی *سودوموناس* و *باسیلوس* تماس داده شد. برای جذب فلز نیکل، از یک گرم توده سلولی مرطوب باکتری استفاده شد.

مدل عمومی برای بررسی جذب فلز بر روی جاذب‌های زیستی بر اساس فرمول ۱ است. در این معادله در نهایت ظرفیت جذب با استفاده از مشخص بودن، وزن توده سلولی، حجم محلول فلزی، غلظت اولیه فلز و غلظت نهایی (تعادلی) فلز به‌دست آمد (۱۳).

$m.q_e=(C_0-C_e)V$ در این معادله:

m: وزن جاذب زیستی (گرم)

Q_e: ظرفیت جذب در حالت تعادل (مول بر گرم)

V: حجم محلول (لیتر)

C_0: غلظت اولیه فلز محلول (مول بر لیتر)

C_e: غلظت فلز در محلول به حالت تعادل (مول بر لیتر) (۱)

بررسی تعیین نوع جذب فعال و غیر فعال توسط باکتری گرم مثبت و منفی

برای انجام این آزمایش، از ترکیب شیمیایی ۲و ۴-دی‌نیتروفنول، سدیم آزید و اتوکلاو استفاده شده است. دی نیترو فنل مانع تشکیل پیوند پر انرژی در باکتری می‌شود؛ در نتیجه، واکنش‌های اکسیداسیون بدون تشکیل پیوند پر انرژی انجام می‌شود؛ یعنی موجب مهار واکنش‌های فسفوریلاسیون اکسیداتیو در باکتری شده و به‌عنوان عوامل جداکننده[۱۳] فسفوریلاسیون از اکسیداسیون هستند. در مقابل سدیم‌آزید به‌عنوان یک بازدارنده[۱۴] عمل می‌کند که قادر است علاوه بر مهار سنتز آدنوزین تری فسفات[۱۵]، سیستم انتقال الکترون را از طریق اختلال در عمل ناقل‌های الکترون مهار سازد. در نتیجه، اثر غیر فعال‌کنندگی آن بیشتر از دی‌نیتروفنول است.

اثر اسیدیته محلول فلزی در جذب فلز نیکل به‌وسیله *باسیلوس* و *سودوموناس*

برای این منظور، نمونه‌های حاوی محلول فلزی نیکل در محدوده اسیدیته‌های ۲ تا ۱۰ با فاصله یک واحد تهیه شد. هر تیمار سه بار انجام شد. در این آزمایش مدت زمان مجاورت دو ساعت، درجه حرارت ۳۰ درجه سانتیگراد و تعداد دورهای شیکر ۱۵۰ دور در دقیقه بود. سپس محلول‌های فلزی حاوی باکتری به‌مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. در نهایت، به منظور بررسی کارایی و ظرفیت جذب رسوب؛ یعنی بیوماس و محلول رویی آن توسط دستگاه جذب اتمی تحلیل شد.

مطالعه آزادسازی نیکل از *سودوموناس* و *باسیلوس* با استفاده عوامل رهاساز

در این آزمایش، از عوامل رهاساز نیتریک اسید برای *سودوموناس* و اتیلن دی آمین تترا استیک اسید برای *باسیلوس* در غلظت یک مولار استفاده شده است. در مرحله اول باکتری‌ها در تماس با محلول حاوی یون نیکل قرار گرفتند. سپس، توده سلولی با آب مقطر بدون یون، دو بار تقطیر شده شستشو داده شد. مدت زمان تماس توده سلولی حاوی نیکل با عوامل رهاساز برابر ۳۰ دقیقه است. سپس باکتری‌های مملو از یون فلزی نیکل در تماس با ۱۰ میلی‌لیتر از عامل رهاساز مذکور با غلظت یک مولار قرار گرفت (۱۳).

نتایج

شناسایی و تهیه *باسیلوس* و *سودوموناس*

با استفاده از آزمایش‌های تشخیصی ساده که در جدول ۱ نشان داده شد، دو باکتری گرم مثبت و منفی انتخاب شده، دارای خصوصیات زیر بودند. باکتری گرم منفی *سودوموناس* دارای فلاژل، میله‌ای شکل، ایندول مثبت، اکسیداز مثبت، که قادر به استفاده از سیترات و ژلاتین بود. باکتری گرم مثبت *باسیلوس*، دارای اسپور مرکزی، دارای فلاژل، میله‌ای شکل، گلوکز و متیل رد مثبت و همچنین، دارای توانایی هیدرولیز ژلاتین بود.

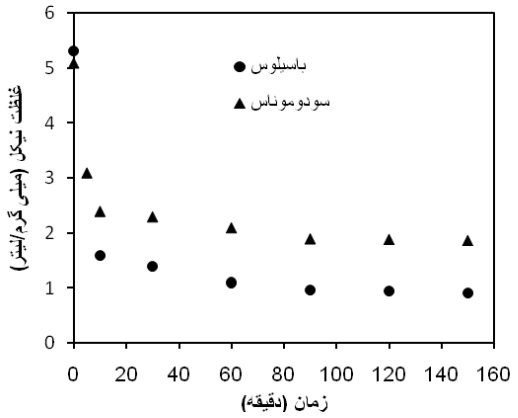
جدول ۱- خصوصیات بیوشیمیایی و ریخت‌شناسی *سودوموناس* و *باسیلوس* جدا شده.

آزمایش‌ها	نتیجه	
	سودوموناس	*باسیلوس*
آزمایش گرم	−	+
اسپور	−	+ (مرکزی)
فلاژل	+	+
شکل	میله‌ای شکل	میله‌ای شکل
حرکت	+	+
فرمنتاسیون گلوکز	−	+
فرمنتاسیون لاکتوز	−	−
فرمنتاسیون مالتوز	−	−
فرمنتاسیون مانیتول	+	−
فرمنتاسیون گزیلاز	−	−
هیدرولیز نشاسته	−	
تولید اندول	+	−
متیل رد	−	+
استفاده از سیترات	+	−
احیاء نیترات	+	+
اکسیداز	+	−
هیدرولیز ژلاتین	+	+

کینتیک جذب نیکل به‌وسیله *باسیلوس* و *سودوموناس*

نتیجه کینتیک جذب نیکل به‌وسیله *سودوموناس* و *باسیلوس* مرطوب در شکل ۱ نشان داده شده است. کینتیک جذب فلز نیکل به‌وسیله باکتری‌ها، بسیار سریع و قابل ملاحظه است، در مورد *سودوموناس* تنها حدود ۵ دقیقه کافی است که ۵۰ درصد نیکل از محلول جدا و جذب باکتری شود. این مدت زمان شاید مربوط به جذب غیروابسته به متابولیسم باکتریایی باشد.و پس از گذشت سه ساعت در باکتری افزایش جذبی صورت نمی‌گیرد.

اما در مورد *باسیلوس* زمان تعادل در حدود ۱۰ دقیقه است. زمان تعادل جذب نیکل به‌وسیله باکتری گرم منفی کمتر از این مدت زمان در باکتری گرم مثبت است. با گذشت زمان، غلظت نیکل در محلول کم می‌شود. این کاهش در *باسیلوس* بیشتر از *سودوموناس* است؛ به بیانی دیگر، قدرت جذب نیکل به‌وسیله *باسیلوس* بالاتر است. نکته مهم در *سودوموناس* در مدت زمان کمتری این کاهش نیکل در محلول صورت می‌گیرد.

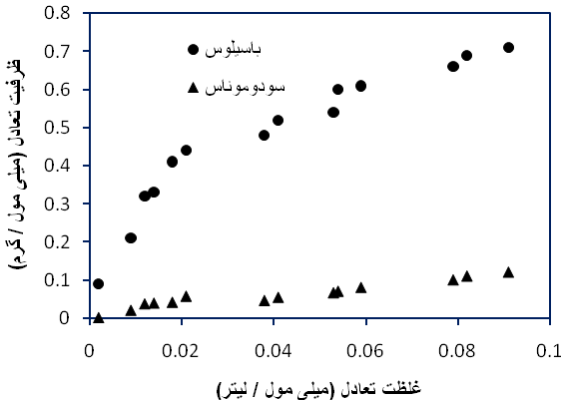


شکل ۱- کینتیک جذب نیکل به‌وسیله *باسیلوس* و *سودوموناس*

ایزوترم جذب نیکل به‌وسیله *باسیلوس* و *سودوموناس*

یافته‌های جذب نیکل به‌وسیله دو باکتری گرم مثبت و منفی در شکل ۲ نشان داده شده است. با افزایش غلظت محیطی فلز جذب نیز افزایش پیدا می‌کند، زیرا با افزایش غلظت فلز، میزان بیش‌تری از فلز در معرض گروه‌های سطحی باکتری‌ها قرار می‌گیرد، اما تا حدی این افزایش غلظت فلز با افزایش جذب همراه است، و پس از آن با توجه به ثابت بودن میزان باکتری‌ها و جایگاه‌های جذب روی توده سلولی، میزان جذب ثابت می‌ماند. این منحنی در اسیدیته برابر ۵/۰ ترسیم شده است. بیشینه جذب در حدود ۰/۷۱ و ۰/۱۲ میلی‌مول بر گرم وزن توده سلولی باکتریایی *باسیلوس* و *سودوموناس*

است.

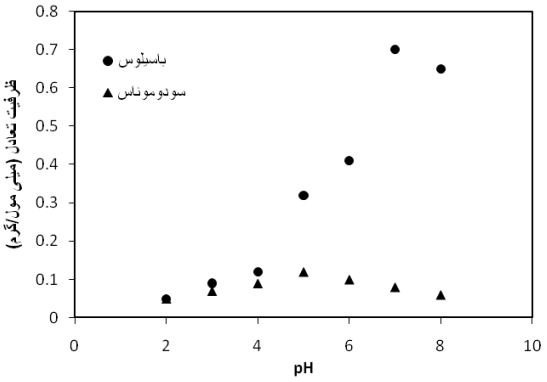


شکل ۲- ایزوترم جذب نیکل به‌وسیله *باسیلوس* و *سودوموناس*

تأثیر اسیدیته محلول اولیه روی جذب نیکل

اثر تغییر اسیدیته بر روی جذب نیکل به‌وسیله توده سلولی مرطوب *سودوموناس* و *باسیلوس* بررسی شده است . تنظیم اسیدیته از طریق افزودن نیتریک اسید ۰/۱ مولار و سود ۰/۱ مولار انجام شد، در شکل ۳ کینتیک جذب نیکل به‌وسیله دو باکتری نشان داده شده است.

همان‌گونه که نشان داده شده است، بیشینه جذب به‌وسیله *سودوموناس* در حدود ۰/۱۲ میلی‌مول بر گرم وزن توده سلولی *سودوموناس* است، که در اسیدیته حدود ۵/۰ رخ داده است، در حالی‌که بیشینه جذب نیکل به‌وسیله *باسیلوس* در اسیدیته حدود ۷ است و در اسیدیته‌های پایین جذب بسیار پایین بوده است. در هر دو جاذب زیستی با افزایش اسیدیته از ۸ به بعد، جذب نیکل به طور معنی‌داری کاهش یافته است. در استفاده‌های صنعتی بهتر است اسیدیته حدود ۶ استفاده شود، که از مواد شیمیایی برای تنظیم اسیدیته در مقیاس وسیع استفاده نشود.

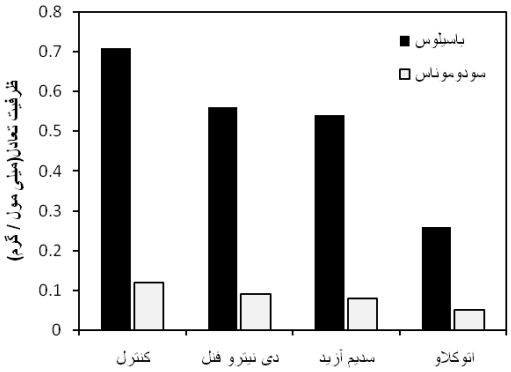


شکل ۳- تأثیر اسیدیته بر جذب فلز نیکل به‌وسیله *باسیلوس* و *سودوموناس*

بررسی تعیین نوع جذب فعال و غیر فعال توسط باکتری گرم مثبت و منفی

همان‌گونه که در شکل ۴ نشان داده شده است، میزان جذب فلز نیکل در سلول‌هایی باکتریایی گرم مثبت که تحت تأثیر سدیم‌آزید و دی‌نیتروفنول قرار گرفته‌اند، نسبت به سلول‌هایی که تحت تأثیر هیچ تیماری قرار نگرفته‌اند، حدود ۲۱ درصد کاهش جذب نشان داده است. البته، میزان کاهش در تیمارهایی که تحت تأثیر سدیم‌آزید قرار گرفته‌اند، اندکی بیشتر است. این دو ترکیب باعث متوقف شدن فعالیت‌های متابولیکی سلول باکتریایی می‌شود، اما سلول‌های باکتریایی که تحت تأثیر تیمار حرارتی اتوکلاو قرار گرفتند، به میزان ۶۳ درصد نسبت به سلول‌های باکتریایی که چنین تیماری بر روی آن‌ها انجام نشده، کاهش جذب نشان دادند، زیرا اتوکلاو باعث از بین رفتن ساختار سطحی سلول باکتری می‌شود و به دنبال آن، جایگاه اتصال فلز نیکل به سلول باکتریایی از بین می‌رود. در نتیجه، جذب فلز نیکل توسط باکتری مورد نظر حدود ۶۳ درصد به‌صورت غیرفعال و حدود ۳۷ درصد به‌صورت فعال انجام می‌شود. در مقابل آزمایش‌های مربوط به جذب

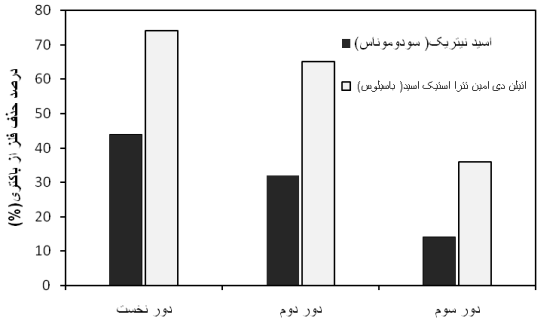
فلز نیکل به‌وسیله باکتری گرم منفی *سودوموناس*، در نهایت به این نتیجه رسیده است، که میزان جذب بصورت غیر فعال حدود ۴۸ درصد و میزان جذب فعال در حدود ۵۲ درصد بوده است. این میزان نشان می‌دهد، در باکتری گرم مثبت *باسیلوس* جذب غیر فعال بسیار بالاتر از گرم منفی *سودوموناس* است و شاید به‌علت حضور اگزو پلی‌ساکارید در سطح *باسلوس* باشد که نقش اصلی را در جذب غیر فعال نیکل دارد.



شکل ۴- تأثیر سدیم‌آزید، اتوکلاو، ۲و۴ دی‌نیتروفنل بر جذب فلز نیکل به‌وسیله *باسیلوس* و *سودوموناس*

استفاده مجدد از باکتری گرم مثبت و منفی با به‌کار بردن عوامل رهاساز

در جریان مطالعه، جداسازی[۱۶] نیکل از *سودوموناس* و *باسیلوس*، بالاترین درصد جداسازی به‌وسیله عامل رهاساز نیتریک اسید، و اتیلن دی آمین تترا استیک اسید در سیکل اول برابر ۴۴ درصد و ۷۴ درصد بوده است. در این آزمایش، بیش‌ترین میزان جذب معادل ۰/۱۲ و ۰/۷۱ میلی‌مول بر گرم وزن توده سلولی برابر ۱۰۰ است. کاهش میزان جذب با این مقادیر مقایسه شده است. این میزان در سیکل‌های بعدی کاهش می‌یابد.این نتایج نشان داد که پس از سه تا چهار بار تکرار فرآیند اتصال جداسازی[۱۷]، میزان جذب به‌وسیله *سودوموناس* و *باسیلوس* کاهش قابل ملاحظه‌ای را نشان می‌دهد. یافته‌ها در شکل ۵ نشان داده شده است. علت جداسازی بیشتر در باکتری گرم مثبت *باسیلوس* به این علت است که جایگاه اتصال نیکل در *باسیلوس* اگزوپلی‌ساکارید سطح باکتری است. به علت این اتصال سطحی و سست بین فلز نیکل و باکتری میزان جداسازی بیشتر است، در حالی که در باکتری گرم منفی اتصال فلز نیکل به سطح دیواره سلولی بوده، از استحکام بیشتری برخوردار است و در نتیجه، میزان جداسازی فلز از باکتری کمتر است. لذا از این دیدگاه در استفاده‌های صنعتی برای استفاده مجدد از باکتری *باسیلوس* گرم مثبت مقرون به صرفه‌تر است (۱۳).



شکل ۵- جداسازی یون نیکل از *سودوموناس* و *باسیلوس* به‌وسیله نیتریک اسید و اتیلن دیامین تترا استیک اسید

بحث

استفاده از تکنولوژی جذب زیستی ارزان‌تر بوده، با کارایی بیشتر و بهتری عمل می‌کند (۱۲). در سال ۲۰۰۸، احمدی و همکاران جذب فلز نیکل را در جلبک قهوه‌ای *فوکوس سراتوس*[۱۸] بررسی کردند. بیش‌ترین میزان جذب نیکل در این جلبک حدود ۰/۹۴ میلی‌مول بر گرم و این عدد در *سودوموناس* و *باسیلوس* مورد مطالعه ۰/۱۲ و ۰/۷۱ میلی‌مول بر گرم بوده است (۱۰ و ۱۱). مسعود حسین و همکاران در سال ۲۰۰۶ از باکتری *باسیلوس سوبتیلیس*[۱۹] برای حذف فلز سرب از محلول‌های آبی استفاده کرده، نشان دادند که این

باکتری توانایی جذبی معادل ۹۷ درصد از سرب را از محلول دارد (۱۲). شایان ذکر است، باکتری‌های مورد مطالعه در مقایسه با جاذب‌های زیستی دیگر دارای کارآیی بالاتری بوده، همچنین، در مقایسه با جلبک‌ها دارای ویژگی‌های مثبت دیگری جز کارآیی پایین‌تر هستند. از این باکتری‌ها می‌توان به‌عنوان یک جاذب مناسب برای زدودن فلز سمّی نیکل از پساب‌های آلوده استفاده کرد. آزمایش‌ها نشان می‌دهد که جذب در باکتری گرم مثبت و گرم منفی مورد مطالعه دو فازی است. در مورد باکتری *باسیلوس* قسمت بسیار زیادی از این جذب مربوط به فرآیند جذب غیروابسته به متابولیسم است. استفاده‌های صنعتی و کاربردی از این باکتری به‌عنوان یک مزیت تلقی می‌شود، چون در این روش محدودیت‌های استفاده از سلول زنده وجود نخواهد داشت، در حالی که، در *سودوموناس* بیش‌ترین میزان جذب مربوط به فرآیند وابسته به متابولیسم باکتری است و فعال بودن باکتری مهم است، در نتیجه، در استفاده‌های صنعتی یک ویژگی منفی تلقی می‌شود (۱۳).

از دیدگاه اثرات اسیدیته، شایسته یادآوری است که در اسیدیته‌های پایین، پروتون‌ها می‌توانند بر روی دیواره سلولی باکتری *سودوموناس* و *باسیلوس* تثبیت شوند و رقابتی بین یون فلزی نیکل و پروتون در محلول رخ می‌دهد. در نتیجه، جایگاه‌های سطحی دیواره *سودوموناس* و اگزو پلی‌ساکاریدهای *باسیلوس* به‌وسیله پروتون‌ها اشغال می‌شود (۱۴ و ۱۵). بعلاوه، این زمان نشان می‌دهد، مدت مورد نیاز برای باکتری برای حذف فلز از محلول آبی مناسب و در استفاده‌های صنعتی ارزشمند است.

استفاده مجدد از جاذب زیستی می‌تواند برای کاربردهای صنعتی در رآکتورهای پیوسته مهم باشد. در این میان، اثر رهاسازها نشان داد، مؤثرترین رهاساز در *باسیلوس* اتیلن دی آمین تترا استیک اسید، اما در *سودوموناس* نیتریک اسید مؤثرترین است. بعلاوه، این میزان جداسازی در *باسیلوس* قابل ملاحظه‌تر است. همچنین، با بررسی گروه‌های سطحی *باسیلوس* با استفاده از اسپکتروفتومتر مادون قرمز[۲۰]، شامل هیدروکسیل، آمین، متیل و سیانید است، اما در مورد *سودوموناس*، مهم‌ترین گروه اصلی در اتصال به فلز نیکل، گروه کربوکسیل سطح دیواره سلولی است (۱۶).

نتیجه‌گیری

بررسی مطالعات سایر محققان نشان می‌دهد که جذب زیستی روش مناسبی برای جداسازی فلزات سمّی و سنگین از آب و فاضلاب بوده است. این تحقیق نشان داد، جذب فلز نیکل به‌وسیله باکتری، به ویژه باکتری گرم مثبت از کارآیی و مزایای بیش‌تری برخوردار است. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، استفاده از *باسیلوس* برای حذف نیکل در سطح صنعتی پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

از سرکار خانم اسلام نیا، دانشجوی کارشناسی ارشد که در انجام این پروژه کمک‌های فراوانی نموده‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

References

(1) Lu WB, Shi Wang JJ and chang JS. Biosorption of lead, copper and cadmium by an indigenous isolate *Enterobacter* sp. J1 possessing high heavy-metal resistance. *J.Hazard.Mater*. 2006; B134: 80-6

(2) Ginn BR, Fein JB. The effect of species diversity on metal adsorption onto bacteria. *Geochim. Cosmochim. Acta* .2008; 72: 3939-48

(3) Romera E, Gonzalez F, Ballester A, Blazquez M.L. and Munoz J.A. Biosorption of heavy metal by *Fucus spiralis*. *Bioresource Technology*. 2008; 99: 4684- 93

(4) Wang J, Chen C. Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnol. Adv.* 2009; 27: 195-226

(5) Soltan ES., Isolation and Characterization of antibiotic and heavy metal resistance *P. Stutzeri*. *Biometals* 2001; 7: 30-40.

(6) Cooksey DA, Azad HR, Accumulation of copper and other metals by copper-resistant plant pathogenic and saprophytic *pseudomonas*. *Appl Enrivon Microbiol;* 1992; 58(1): 274-248

(7) Xu J, Song XC, Zhang Q, Pan H, Liang Y. Characterization of metal removal of immobilized Bacillus strain CR-7 biomass from aqueous solutions. *Journal of Hazardous Materials.* 2011; 187: 450-58

(8) Malkoc E., Nuhoglu Y. Investigations of nickel (II) removal from aqueous solutions using tea factory waste. *Journal of Hazardous Materials*. 2005; 127: 120-8

(9) Prasher SO, Beaugeard M, Hawari J, Bera P, Patel RM and Kim SH. Biosorption of heavy metal by red algae (*Palmaria palmate*). *Environmental Technology*, 2004; 25:1097-106

(10) Ahmady-Asbchin S, Bahrami AM, Nickel biosorption by immobilized of Bacillus sp. from aqueous solutions. *Advances in Environmental Biology*, 2011, 7: 1656-62.

(11) Ahmady-Asbchin S, Andrès Y, Gérente C, Le Cloirec P, Biosorption of Cu (II) from aqueous solution by *Fucus serratus*. *Bioresource Technology*.2008; 99: 6150-55

(12) Reddad Z, Gérante C, Andres Y, Le Cloirec P, Adsorption of several metal ions onto a low cost biosorbent: Kinetic and Equilibrium Studies. *Environ. Sci. Technol.* 2002; 36: 2067-73

(13) Ahmady-Asbchin s, Andres Y, Malekzadeh F, Biosorption and Optimization of Condition Uptake of Cesium by Bacterium .*water and wastewater*.2011; 4: 50-5

(14) Aksu Z, Balibek E. Chromium (VI) biosorption by dried *Rhizopus arrhizus*: Effect of salt (NaCl(concentration on equilibrium and kinetic parameters. *J Hazard Mater*, 2007;145(1-2): 210–20.

(15) Dogru M, Gul-Guven R, Erdogan S. The use of *Bacillus subtilis* immobilized on Amberlite XAD-4 as a new biosorbent in trace metal determination. *J Hazard Mater*, 2007; 149(1): 166–73.

(16) Jingjing, X. Changxiong, Z. Dongyuan, S. Ping, G. Yunlong, T. Removal of ammonium-N from ammonium-rich sewage using an immobilized *Bacillus subtilis* AYC bioreactor system. *Journal of Environmental Sciences*, 2011; 23(8): 1279–1285.

1- Soltan ES. 2001
2- *Pseudomonas aeruginosa*
3- Cooksey D.A, Azad H.R. 1992
4- *Pseudomonas syngeri*
5- *Palmaria palmate*
6- *Bacillus* sp. strain MGL-75
7- *Pseudomonas sp.* AEJ-89
8- batch reactor
9- Glucose mineral salts(GMS)
10- Atomic Absorption Spectrometer (Chem., Tech, Analytical CTA 2000),
11- NaOH
12- HCL
13- Uuncoupling agents
14- Inhibitor
15- ATP
16- Desorption
17- Biosorption-desorption
18- *Fucus serratus*
19- *Bacillus subtilis*
20- Fourier transforms infrared spectroscopy(FT-IR)

Evaluation of parameters effective in nickel uptake by *Pseudomonas* and *Bacillus*

Salman Ahmady-Asbchin*
Assistant Professor of Industrial Microbiology, Ilam University, Ilam, Iran, sahmadyas@yahoo.fr
Naser Jafari
Assistant Professor of Biology, Mazandaran University, Mazandaran, Iran, n.jafari@umz.ac.ir

Abstract

Introduction: The heavy metal pollution has turned out to be one of the most important environmental problems. Due to their high stability in the presence of large amounts of wastewater factory, water treatment is necessary.

Materials and Methods: In this study, *Pseudomonas* bacteria were isolated Ilam Town industrial waste water used as an example of Gram-negative bacteria. And *Bacillus* was isolated from desert dust Maranjab Kashan, as representative of Gram-positive bacteria Then, they were investigated in the biological uptake of nickel from aqueous solution in batch reactors.

Results: In this research, factors such as the rate of absorption of nickel, the effect of pH solution, metal reproducibility, metal uptake by *Pseudomonas* and *Bacillus*, were studied. Adsorption equilibrium time was approximately 10 minutes by *Bacillus* and the maximum metal uptake by the bacteria was 0.71 mmol/g dry weight of cells.

Discussion and Conclusion: Nickel uptake by *Pseudomonas* was about 0.12 mmol/g dry weight cell mass and the equilibrium time was about 5 minutes. Best nickel release factors were *Bacillus* and *Pseudomonas*, respectively, of EDTA and nitric acid. The results showed that gram-positive bacterium *Bacillus* was a better choice for the removal of nickel from contaminated solutions.

Key words: *Pseudomonas*, *Bacillus*, nickel, Biosorption, Isotherm

* Corresponding Author