# حذف دوتایی فلزهای سنگین کادمیم و نیکل به‌وسیله باکتری جداسازی شده از پساب کارخانه صنایع فولاد و بررسی پارامترهای موثر در حذف آن‌ها و مطالعه روش سطح پاسخ RSM

سلمان احمدی اسب چین*+
گروه میکروبیولوژی ،دانشکده علوم پایه ،دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

محمد اکبری نسب
گروه فیزیک دریا ،دانشکده علوم دریای ،دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

کلر ژرانت
گروه انرژی و محیط زیست، اکول مین نانت، نانت، فرانسه

**چکیده:** در دو دهه اخیر، آلودگی محیط زیست بوسیله فلزات سنگین افزایش یافته و تجمع این آلودگی‌ها در اکوسیستم های آبی خطرات زیادی را برای سلامت انسان‌ها، حیوانات، گیاهان و همچنین محیط‌زیست به همراه داشته‌است. از کادمیم و نیکل به عنوان فلزاتی که دارای خاصیت سمی و سرطانی است، یاد می‌گردد. در این تحقیق به جداسازی باکتری‌هایی از کارخانه صنایع فولاد و چشمه آب گرم لاویج استان مازندران، پساب کارخانه سوسیس و کالباس رمه استان گلستان، که دارای توانایی جذب‌زیستی کادمیم و نیکل می‌باشد، پرداخته شده است. در ادامه فرایند بهینه‌سازی جذب زیستی (اثر پارامتر هایی مانند: دما، غلظت فلز ها، مقدار باکتری، pH...) بررسی گردید. بر اساس نتایج فوق، بهترین جدایه برای حذف این فلز ها مورد استفاده قرار گرفته است. یافته‌های بیوشیمیایی، ریخت شناسی، و مولکولی نشان از نزدیکی جدایه منتخب به جنس باسیلوس داشته است. با توجه به تست حداقل غلظت مهاری، باکتری باسیلوس منتخب، تا غلظت ۱۵۰۰ppm از کادمیم و ۲۲۰۰ppm از نیکل مقاومت نشان داده است. بهینه pH برای حذف فلز های کادمیم، نیکل بوسیله باکتری منتخب به ترتیب، ۶٫۵، ۵٫۵ بوده و راندمان جذب فلز های کادمیم ، نیکل به ترتیب ۰٫۷۲، ۰٫۶۳ میلی مول بر گرم بوده است. درجه حرارت بهینه برای حذف فلز کادمیم، نیکل بوسیله باکتری باسیلوس ۴۵ درجه سلسیوس است. ایزوترم جذب برای هر دو فلز به ایزوترم لانگمویر شباهت داشته که نشان از تک لایه بودن فرایند جذب سطحی دارد و سینتیک آن مطابق مدل سینتیک درجه دوم است و مقدار بهینه بیومس باکتری باسیلوس ۱٫۵ گرم بر لیتر بدست آمده است. جدایه منتخب دارای ویژگی‌های مناسب برای استفاده در مقیاس حقیقی و صنعتی حاوی فلز های مذکور می باشد.

* عهده‌دار مکاتبات
+Email: sa.ahmadi@umz.ac.ir

**واژگان کلیدی:** *نیکل، کادمیم، روش سطح پاسخ ، جذب زیستی*

***KEYWORDS:*** *Nickel, Cadmium, Response Surface Methodology RSM, Biosorption*

## مقدمه

فلزات سمی و سنگین از منابع طبیعی و انسانی وارد محیط می‌شوند. منابع طبیعی ورود این فلزها به محیط شامل، فعالیت‌های آتشفشانی، هوازدگی، فرسایش مواد معدنی و سنگ‌ها و آتش گرفتن جنگل‌ها است و از طرفی دیگر، منابع انسانی برای ورود این فلزات سنگین به محیط، شامل، عملیات صنعتی از جمله استخراج، ذوب، آبکاری، صنایع نقاشی و عکاسی، کودهای کشاورزی و صنایع هسته‌ای می‌باشد. بطوریکه، مواد شیمیایی حاصل از فعالیت‌های کشاورزی و صنعتی اغلب واجد فلزات سنگین بوده که آن‌ها را به رودخانه‌ها، دریاچه‌ها و آب‌های زیرزمینی سرازیر می‌کنند [۱]. آلودگی حاصل از این منابع طبیعی و انسانی می‌تواند به راحتی در محیط‌های مختلف پراکنده گردیده، و شرایط محلی غلظت فلزات را افزایش داده که باعث اثرات مخرب بر محیط زیست و سلامت انسان گردد [۲]. از دیگاه زیستی، وارد شدن فلزات سنگین به زنجیره غذایی برای سلامتی انسان بسیار خطرناک می‌باشد. خوشبختانه امروزه، این مشکل مورد توجه سازمان‌های دولتی و مردم به ویژه در کشورهای در حال توسعه قرار گرفته است. کادمیم فلزی سنگین و بسیار سمی است که از آلاینده‌های اصلی صنعتی و زیست محیطی بویژه در چند دهه اخیر محسوب می‌شود. این عنصر، زیست تخریب پذیر نبوده و با تجمع در سراسر زنجیره غذایی از طریق جذب گیاهان در خاک و یا آب آلوده می‌تواند برای سلامتی انسان بسیار خطرناک باشد [۳]. کادمیم در بافت‌هایی مانند کلیه و کبد برای مدت‌ها بدون دفع باقی می‌ماند و منجر به آسیب مزمن این بافت‌ها، مشکلات استخوانی و در نهایت شاید منجر به سرطان گردد [۴]. نیکل نیز برای سلامتی مضر است و می‌تواند باعث واکنش‌های آلرژیک، اختلالات تولیدمثل و نقص مادرزادی گردد. از طرفی دیگر، نیکل به عنوان یک ماده سرطان‌زای انسانی قلمداد شده و مقدار زیاد آن ممکن است منجر به سرطان استخوان، ریه و بینی شود. بنابراین این فلز نیز برای موجودات زنده خطرناک بوده و حذف آن از پساب‌های صنعتی بسیار توصیه می‌گردد [۵].

روش‌های مرسوم حذف فلزهای سنگین و سمی شامل: الکترودیالیز، ترسیب شیمیایی، تبادل یونی، سیمیانی شدن، انعقاد الکتریکی، صافی غشایی، تبخیر، جذب سطحی، اسمز معکوس بوده، که به نظر می‌رسد، در غلظت‌های پایین آلاینده‌های فلز سمی و سنگین جواب نداده و همچنین در مقایسه با روش‌های زیستی، شاید مقرون به صرفه نباشند. در چند دهه اخیر حذف فلزات بر اساس روش‌های زیستی متعارف مورد مطالعه وسیع قرار گرفته است، به عنوان نمونه می‌توان به جذب زیستی اشاره کرد. جذب زیستی عموماً به معنی توانایی زیست‌توده باکتریایی درجهت جمع‌آوری فلزات سنگین از فاضلاب‌های صناعی آلاینده از طریق فعالیت‌های متابولیکی غیر مستقیم یا راه‌های شیمیایی جذب می‌باشد. میکروارگانیسم‌هایی، مانند: جلبک‌ها، کپک‌ها، مخمرها، باکتری‌ها و آرکی‌باکترها از جمله این جاذب‌های زیستی قلمداد می‌گردند. در بین میکروارگانیسم‌های مهم مؤثر در فرایند حذف و جذب فلز، باکتری‌ها از فراوان ترین و موثرترین آنها ها هستند و بخش قابل توجهی از کل زیست‌توده زمینی زنده را تشکیل می‌دهند. ازمیان عوامل موثر در فرایند جدب زیستی، سه عامل نقش اساسی درجذب زیستی توسط باکتری‌ها به عنوان،جاذب زیستی معتبر را دارند: الف) تعداد جایگاه‌های اتصال سطح، ب) استحکام اتصال برای انواع یون‌ها و ج)مکانیسم‌های اتصال. باکتری‌ها دارای لایه‌های پلی‌ساکاریدی هستند و به آسانی گروه آمینو، کربوسیل، فسفات و سولفات را برای جذب زیستی فلزات فراهم می‌کنند. زیست‌توده زنده و مرده باکتری‌ها به عنوان جاذب برای جذب فلزات سمی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۶]. بار منفی میکروارگانیسم‌ها به دلیل ساختارهای مختلف آنیونی بر روی سطوح سلولی آن‌ها است که امکان اتصال کاتیون‌های فلزی را می‌دهد. گروه‌های عملکردی دارای بار منفی موجود در پپتیدوگلیکان، اسیدهای تیکوئیک و اسیدهای تیکوئورونیک باکتری‌های گرم مثبت و پپتیدوگلیکان، فسفولیپیدها و لیپوپولیساکاریدهای باکتری‌های گرم منفی، اجزایی هستند که عمدتاً مسئول طبیعت آنیونی و کمک اتصال فلز به دیواره سلولی هستند [۷]. جنس‌های باکتریایی مانند *باسیلوس، سودوموناس، استرپتومایسس، اشریشیا، میکروکوکوس ، اسینتوباکتر* و تعدادی دیگر برای جذب فلزات آزمایش شده‌اند [۸]. *غفوری طالقانی* و *همکاران* به مطالعه حذف زیستی فلز سنگین کبالت بوسیله مخمر *ساکارومیسس سروزیه* پرداختند، و نتایج تحقیقشان

نشان داد، زمان تعادل ۶۰ دقیقه، دما ۲۵ درجه سلسیوس، pH برابر ۵/۵ و بیشترین ظرفیت جذب برابر ۲/۸۸ میلی گرم در گرم وزن خشک مخمر مذکور بوده است، آزمایش‌های ترمودینامیکی این مطالعه نشان داد فرایند خودبخودی وگرماگیر است [۹]. در سال ۲۰۲۲ *راجیوگاندی* و *همکاران* جذب زیستی فلز سرب بوسیله باکتری *باسیلوس سرئوس* را مورد مطالعه قرار دادند، میزان ظرفیت حذف فلز مذکور برابر ۸۵/۵٪ بوده است، زمان تعادل ۶۰ دقیقه، pH برابر ۷ بوده است [۱۰]. هدف از این تحقیق،جداسازی و شناسایی باکتری دارای توانایی حذف فلزهای کادمیم و نیکل، بررسی پارامترهای مؤثر بر حذف این فلزها، بررسی حذف همزمان و دوتایی فلزهای مورد مطالعه و در نهایت بررسی روش سطح پاسخ بوده است. برای بدست آوردن باکتری مقاوم به شرایط نامساعد محیطی و مقاوم، و از طرفی دیگر دارای توانایی حذف فلزها، از محیط‌هایی شامل، پساب کارخانه‌ها و آب گرم چشمه استفاده گردید.

## بخش تجربی

### مرحله جداسازی و شناسایی باکتری ها

نمونه‌گیری‌ها از پساب کارخانه صنایع فولاد و چشمه آب گرم لاویج استان مازندران، پساب کارخانه سوسیس و کالباس رمه استان گلستان، انجام شده است. بعد از آوردن نمونه‌ها به آزمایشگاه رقت $10^{-1}$ – $10^{-3}$ تهیه شده و همچنین به منظور جداسازی رسوب مقدار یکسانی از محلول‌ها را در فالکون۱۰ میلی‌لیتر ریخته و در سانتریفیوژ با دور ۵۰۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شده است. به منظور جداسازی اولیه[۱] به محیط کشت LB[۲] جامد (۱۰ گرم تریپتون، ۵ گرم عصاره مخمر و ۱۰ گرم کلرید سدیم را در یک لیتر آب مقطر حل کرده و به کمک هیدروکسید سدیم یک مولار pH روی ۷ تنظیم گردید) به میزان۵۰ میلی‌گرم بر لیتر از فلزات سنگین کادمیم و نیکل اضافه گردید. محیط کشت LB جامد برای شناسایی و جداسازی کلنی‌های تکی که مقاوم به فلز بوده است استفاده گردید، محیط کشت نوترینت براث برای تقویت و تکثیر باکتری‌های مقاوم به فلز و بدست آوردن زیست‌توده‌های مورد مطالعه، مورد استفاده قرار گرفت. هر یک از نمونه‌ها در گرمخانه با دمای ۳۷ درجه سلسیوس، به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. از بین کل کلنی‌های تشکیل شده بر روی محیط کشت‌ها ۱۲ کلنی که از نظر شکل و رنگ متفاوت بوده، تجدید کشت گردید. برای خالص‌سازی نمونه‌ها هر کدام سه بار کشت داده و هر بار ۲۴ ساعت در گرمخانه قرار گرفت. برای تهیه استوک فلزی به میزان ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر محلول استوک فلزی کادمیم، نیکل با حل کردن $NiCl_2.6H_2O$ و $CdCl_2.6H_2O$ در آب مقطر تهیه گردید. مقادیر pH در ۷ با HCl ۰/۱ مولار و NaOH ۰/۱ مولار تنظیم شده است.

### بررسی های ریخت شناسی و بیوشیمیایی جدایه های باکتریایی

معیارهای مناسب برای طبقه‌بندی باکتری‌ها شامل تعداد زیادی از ویژگی‌هایی است که هر یک به نوبه خود با آزمون‌های بیوشیمیایی یا فیزیولوژیکی تعریف می‌گردد و بر اساس آن باکتری‌ها شناسایی شده و در گروه مربوط به خود قرار می‌گیرند. آزمون های بیوشیمیایی مختلفی جهت شناسایی جدایه ها به کار گرفته شد که شرح برخی از آنها در ادامه می‌آید [۱۱]. تست‌های انجام شده در این تحقیق عبارتند از: تست کاتالاز، تست آمیلاز، تست ژلاتیناز، تست اوره آز، تست اکسیداز، تست‌های IMViC، تخمیر کربوهیدرات، بررسی حرکت، بررسی تولید گاز سولفیدهیدروژن و تست‌های مرسوم و معروف میکروبیولوژی، که این تست‌ها بر اساس کتاب *برجی* و آزمایش‌های اولیه باکتریایی، از جمله، رنگ آمیزی گرم، ساختار ریخت شناسی انتخاب گردید.

### مطالعه و بررسی فرایند سینتیک در فرایند جذب فلزهای کادمیم و نیکل بوسیله جدایه منتخب

از ارلن یک لیتری برای این آزمایش استفاده می‌شود، جدایه منتخب وارد ارلنی می‌گردد که در آن فلزهای کادمیم و نیکل قرار داده شده و میزان و تراکم فلزها در حدود ۵ میلی گرم بر لیتر بوده است به میزان ۰/۱ گرم باکتری در واحد لیتر بصورت زیست‌توده مرطوب به ارلن اضافه گردید. سپس در زمان‌های مختلف به ترتیب ۵، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۶۰، ۷۵، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه از ارلن ده میلی‌لیتر را برداشته، از فیلتر سرسنگی عبور داده و نمونه‌ها در یخچال نگهداری شده، برای آنالیز بوسیله دستگاه جذب اتمی مورد استفاده قرار گرفت.

### بررسی مدل ایزوترم (هم‌دمایی) فرایند حذف فلزهای مورد نظر بوسیله جدایه باکتریایی انتخاب شده

برای صرفه جویی در استفاده از محیط کشت و مقرون به صرفه‌بودن و جاگیری ارلن ها در یک انکوباتور برای آزمایش‌های بعدی بجای ارلن یک لیتری از ارلن با اندازه ۲۵۰ میلی لیتری استفاده، برای انجام ایزوترم جذب سطحی، به مقدار ۰/۵ تا ۳ میلی‌گرم در واحد

(۱) Primary screening

(۲) Luria-Bertani

لیتر به آن فلزهای نیکل، کادمیم (غلظت‌های اولیه فلز) بصورت مجزا در سه ارلن مختلف استفاده گردید. این غلظت‌ها از فلز با مقدار ۰/۱ گرم زیست‌توده باکتری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس داخل یک گرمخانه شیکردار (۱۵۰ rpm) به مدت ۳ ساعت تماس داده شد. پس از گذشت این زمان با استفاده از سرنگ، ۵ میلی‌لیتر از ارلن حاوی باکتری و فلز، نمونه برداشته و از فیلتر سرسرنگی با مش ۰/۴۵ میکرومتر گذرانده شد تا نمونه عاری از باکتری باشد. آنالیز فلزها در محلول بوسیله دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد [۱۲].

### بررسی اثر pH محلول در فرایند جذب زیستی

برای رسیدن به هدف بررسی نقش فاکتور فوق بر میزان جذب نیاز است که باکتری و فلزها در pH های مختلف بر هم کنش داشته و در نهایت میزان و کارایی جذب محاسبه گردد. در این تحقیق Hهای ۳ تا ۱۲ تهیه گردید، برای انجام این مهم از محلول‌های هیدروکسید سدیم و کلرید سدیم برای تنظیم pHهای مختلف استفاده گردید. مدت زمان اتصال در حدود سه ساعت و مقدار زیست‌توده باکتریایی استفاده شده برای ارلن ها ۰/۱ گرم در لیتر بوده، و غلظت فلزها در حدود ۵ میلی گرم بر لیتر مهیا گردیده است. ارلن ها در گرمخانه مستقر شده و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۳ ساعت عمل برهم‌کنش صورت گرفته است. از ارلن‌ها قبل و بعد از افزودن زیست‌توده باکتریایی نمونه‌گیری کرده و در نهایت آنالیز گردید [۱۳].

### مطالعه و بررسی تاثیر میزان زیست توده جاذب زیستی بر فرایند جذب

برای بررسی تاثیر میزان تراکم زیست توده از ۰/۵ تا ۳ گرم بر لیتر با ۰/۵ واحد اختلاف استفاده گردید. این فاکتور برای نشان دادن و استفاده در مراحل بعدی و سطح صنعتی از اهمیت بالایی برخوردار است. بعد از قرار دادن ارلن‌های حاوی زیست‌توده‌های باکتریایی و فلزهای متفاوت کادمیم و نیکل اجازه تماس به مدت ۳ ساعت بین جاذب زیستی و جذب شونده را داده در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و دور شیکر در ۱۵۰ دور در دقیقه انکوباتور داده شده است.

### مطالعه و بررسی اثر دمای محیط و محلول بر فرایند جذب فلز ها بوسیله زیست توده باکتریایی

محلول‌های فلزی واجد فلزهای کادمیم و نیکل بوسیله زیست‌توده باکتریایی با تراکم ۰/۱ گرم بر لیتر و در pH حدود ۶ به مدت ۳ ساعت اجازه ارتباط و میانکنش داده شده است. برای بررسی نحوه اثر دما بر افزایش یا کاهش کارایی جذب، دماهای ۵، ۲۰، ۳۰، ۴۵ و ۶۵ درجه سلسیوس انتخاب گردید.

### مقایسه جذب فعال وابسته به متابولیسم و جذب غیر فعال غیر وابسته به متابولیسم بوسیله جدایه منتخب

به منظور به دست آوردن باکتری غیرفعال، این سلول‌ها ابتدا در بافر تریس ۰/۱ مولار حاوی ۱۰۰ میلی مولار از سدیم آزید و ۲و۴ دی نیتروفنل به مدت ۲ ساعت قرار داده شدند، در ادامه زیست‌توده باکتریایی با بافر تریس شستشو داده شد. همچنین از سلول‌های باکتریایی که به مدت ۱۵ دقیقه در فشار یک اتمسفر در دمای ۱۲۱ درجه قرار داده شده بودند و سلول‌های باکتریایی که در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک شده بودند، استفاده گردید. بعد انجام این مراحل به منظور نشان دادن غیرفعال شدن باکتری‌ها، سلول‌های باکتریایی تیمار شده به روش‌های فوق در محیط کشت نوترینت آگار به روش خطی کشت داده شدند. هرکدام از سلول‌های باکتریایی تیمار شده و همچنین سلول‌های باکتریایی شاهد را به مدت ۳ ساعت در مجاورت محلول فلزی کادمیم، نیکل با میزان ۸ میلی‌گرم بر لیتر در دمای ۳۷ درجه سلسیوس داخل یک گرمخانه شیکردار (۱۵۰rpm) قرار داده شد. پس از گذشت این زمان با استفاده از سرنگ، ۵ میلی‌لیتر از نمونه را برداشته و از فیلتر سرسرنگی با مش ۰/۴۵ میکرومتر گذرانده شد تا نمونه عاری از باکتری باشد.

### طراحی آزمایش به روش سطح پاسخ RSM

روش سطح پاسخ مجموعه‌ای از روش‌های ریاضی است که رابطه بین یک یا چند متغیر پاسخ را با چندین متغیر مستقل (مورد مطالعه) تعیین می‌کند. استفاده از روش سطح پاسخ در مطالعات جذب زیستی باعث می‌شود که با توجه به فعل و انفعالات بین متغیرها، تعداد اجرای آزمایشی کاهش یابد و اهمیت فردی و نسبی پارامترها و همچنین اثرات تجمعی آن‌ها ارزیابی گردد. نتایج به طور کلی به صورت خطوط دو بعدی و نمودارهای سه بعدی ارائه می‌شود. روش سطح پاسخ نیاز به استفاده از طرح تجربی آماری، مدل سازی رگرسیون خطی و روش‌های بهینه‌سازی دارد. چندین مرحله در کاربرد روش سطح پاسخ به عنوان ابزار بهینه‌سازی دخیل هستند؛ این موارد شامل انتخاب متغیرهای مستقل و محدوده آن‌ها، انتخاب طرح آزمایشی و انجام آزمایش‌ها، ایجاد معادله مدل رگرسیون خطی بر اساس نتایج تجربی، تأیید کفایت مدل و نمایش

**جدول ۱- ویژگی های ریخت شناسی جدایه های رشد یافته بر روی محیط**

| | ریخت شناسی کلنی | | | | | ریخت شناسی سلولی باکتریایی | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| جدایه باکتری | فرم | حاشیه | برجستگی | رنگ | شکل | رنگ آمیزی گرم | |
| WW1 | نامرتب | موج دار | مسطح | سفید براق | باسیل | گرم مثبت | |
| WW2 | نامرتب | موج دار | مسطح | سفید براق | باسیل | گرم مثبت | |
| WW3 | گرد | صاف کامل | برآمده | سفید زرد | کوکوباسیل | گرم مثبت | |
| WW4 | بیضی | صاف کامل | کمی برآمده | سفید براق | دیپلوباسیل | گرم مثبت | |
| WW5 | گرد | صاف کامل | مسطح | سفید مات | کوکوباسیل | گرم مثبت | |
| WW6 | نامرتب | موج دار | کمی برآمده | زرد براق | باسیل | گرم مثبت | |
| WW7 | نامرتب | موج دار | مسطح | زرد مات | باسیل | گرم مثبت | |
| WW8 | گرد | صاف کامل | کمی برآمده | سفید مات | کوکوباسیل | گرم مثبت | |
| WW9 | نقطه‌ای | صاف و کامل | کمی برآمده | سفید مات | کوکوباسیل | گرم مثبت | |
| W10 | نامرتب | موج‌دار | مسطح | زرد مات | باسیل | گرم مثبت | |
| W11 | نامرتب | موج‌دار | مسطح | سفید زرد | باسیل | گرم مثبت | |
| W12 | بیضوی | صاف کامل | برآمده | سفید زرد | دیپلوباسیل | گرم مثبت | |

**جدول ۲ - آزمون‌های بیوشیمیایی و افتراقی انجام شده به جهت شناسایی اولیه جدایه‌ها**

| جنس احتمالی | TSI | نشاسته | ژلاتین | اوره | سیترات | VP | MR | $H_2S$ | حرکت | اندول | اکسیداز | کاتالاز | پیگمان | شاخص‌ها |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| باسیلوس | Acid/Acid | + | + | + | + | + | − | + | + | + | − | + | − | WW1 |
| باسیلوس | Acid/Acid | + | + | − | + | + | − | − | + | − | − | + | − | WW2 |
| کورینه باکتریوم | Alk/Acid | − | − | − | + | − | + | + | − | + | − | + | + | WW3 |
| باسیلوس | Acid/Acid | + | + | − | + | + | − | − | + | − | − | + | − | WW4 |
| باسیلوس | Acid/Acid | + | + | − | + | + | − | − | + | − | − | + | − | WW5 |
| باسیلوس | Acid/Acid | + | + | + | + | + | − | − | + | − | − | + | + | WW6 |
| باسیلوس | Acid/Acid | + | + | − | − | + | − | − | + | − | − | + (ضعیف) | − | WW7 |
| کورینه باکتریوم | Alk/Acid | − | − | − | + | − | + | + | − | + | − | + | − | WW8 |
| باسیلوس | Acid/Acid | + | − | − | + | + | − | − | + | − | − | + | + | WW9 |
| باسیلوس | Acid/Acid | + | + | − | + | + | − | − | + | − | − | + | − | W10 |
| باسیلوس | Acid/Acid | + | + | + | + | + | − | + | + | + | − | + | − | W11 |
| باسیلوس | Acid/Acid | + | − | − | + | + | − | − | + | − | − | + | − | W12 |

گرافیکی آن و به دست آوردن شرایط مطلوب می‌باشد. سپس بر اساس تعداد متغیرها و سطوح آن‌ها جدول طراحی آزمایش تعیین شد. نقاط مرکزی سه متغیر محاسبه گردید و با در نظر گرفتن کدهای درج شده شرایط ۱۶ حالت متفاوت از نظر pH، غلظت زیست توده باکتریایی و دما تعیین شد و آزمایشات انجام شدند [۱۴].

## نتیجه‌ها و بحث

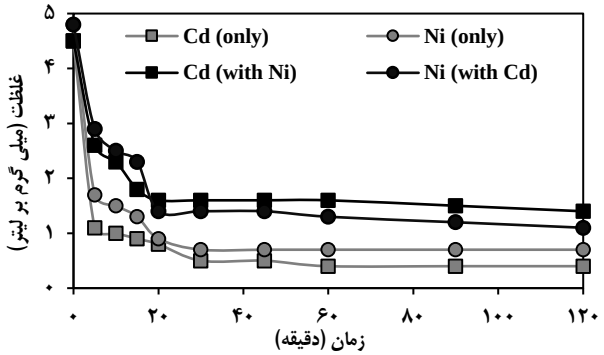
### جداسازی و شناسایی ریخت شناسی و بیوشیمیایی باکتری‌ها

بعد از آوردن نمونه‌ها به آزمایشگاه و کشت در محیط حاوی فلز سنگین، کلنی‌های متفاوتی بر روی پلیت تشکیل گردید. برای ادامه کار ۱۲ کلنی انتخاب شده در این مرحله از نظر ویژگی‌های ریخت شناسی و بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفتند و با رنگ‌آمیزی گرم، و کشت ساب کالچر، خالص بودن آن‌ها تاییدگردید. برای سهولت در اشاره به جدایه‌های قابل رشد در محیط غنی‌کننده، گونه‌های جدا شده از آب گرم لاویج مازندران با W[1] و گونه‌های جدا شده از پساب‌ها با WW[2] و شماره مرتبط با آن مشخص گردیدند (جدول‌های ۱ و ۲).

در ادامه نتایج شناسایی باکتری‌های مورد مطالعه آمده است.

(۱) Water

(۲) Waste water




**شکل ۱ - سینتیک حذف فلزهای کادمیم، نیکل به حالت تکی و حالت دوتایی بوسیله جدایه منتخب WW6 (میزان باکتری ۰/۱ گرم بر لیتر، مدت زمان تماس ۳ ساعت، pH برابر ۶، دما ۳۷ درجه سلسیوس، دور شیکر ۱۵۰ دور در دقیقه، میزان فلزها ۵ میلی‌گرم بر لیتر)**

**سینتیک جذب فلزهای کادمیم، نیکل توسط جدایه منتخب WW6**

نتایج سینتیک نشان داد، در محلولی که تنها فلز کادمیم و باکتری باشد، بعد از گذشت دقایق اولیه بخش زیادی از فلز کادمیم از محلول حذف می‌گردد و بوسیله باکتری جذب می‌گردد و این زمان تا ده دقیقه نخستین می‌باشد و در این مدت زمان بیش از چهار پنجم فلز حذف می‌گردد به بیانی ساده‌تر در این مدت زمان کوتاه بیشترین کارایی جذب صورت گرفته است و با گذشت زمان در حدود دو ساعت به تعادلی در حذف فلز رسیده است. برای ادامه آزمایش‌ها بر اساس نتایج این آزمایش مدت زمان سه ساعت را به عنوان مدت زمان مورد نیاز تماس و واکنش بین جاذب زیستی و جذب شونده‌ها (فلزهای کادمیم، نیکل) در نظر گرفته شده است.

بررسی مشابه در خصوص فلز نیکل انجام گردید، نتایج بدست آمده تقریباً مشابه سینتیک جذب کادمیم بوده‌است و تفاوت اصلی در میزان کمتر حذف فلز نیکل از محلول می‌باشد، و مدت زمان ۱۰ دقیقه برای حذف فلز از محلول کفایت می‌کند و زمان تعادل از منظر علمی ۲ ساعت در نظر گرفته شده است. از دیدگاه نظری و تئوری زمان ۳۰ دقیقه برای رسیدن به بیشترین میزان حذف فلزها مناسب است (شکل ۱).

فرایندهای جذب بصورت فلزهای دوتایی کادمیم (با نیکل) میزان حذف فلز کادمیم کاهش از خود نشان می‌دهد، بنابراین کاهش راندمان حذف در حالت دوتایی مشاهده گردیده است. فرایند جذب دوتایی فلز نیکل (به همراه کادمیم) کاهش در میزان حذف ملاحظه ولی هنوز از دیدگاه صنعتی راندمان حذف نیکل قابل قبول است و تاثیر و تداخل دو فلز مذکور در کاهش حذف آن‌ها از محلول مشاهده گردید.

**یافته‌های ایزوترم حذف کادمیم ونیکل به حالت‌های تکی،دو تایی جدایه منتخب WW6**

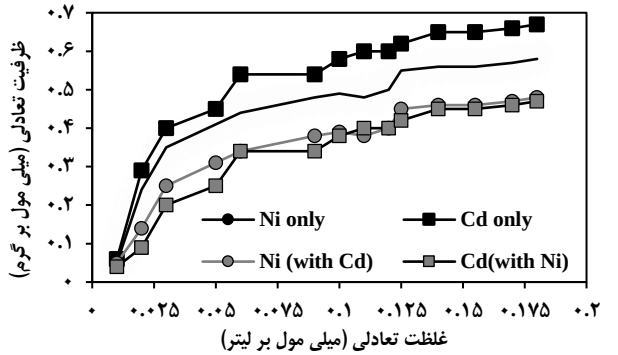
یافته‌های ایزوترم در شکل زیر نمایش داده شده است. شاید هم‌دمایی به همراه pH مهمترین پارامتر موثر بر فرایند حذف و جذب فلز از محلول‌های فلزی باشد. همانگونه که نشان داده شده است، برای حذف فلز کادمیم بصورت تکی در محلول با افزایش غلظت فلز میزان حذف آن بوسیله جدایه مورد مطالعه، بیشتر می‌گردد و تا غلظت فلز در محلول به میزانی از افزایش رسیده، اما دیگر در ظرفیت جذب فلز تاثیر چندانی نخواهد داشت. برای فلزهای نیکل در حالت کلی چنین یافته هایی بدست آمده منتهی ظرفیت جذب فلز مذکور پایین‌تر می باشد، و برای بدست آوردن پارامترهای هم دمایی لانگمویر از نمودار خطی آن استفاده شده است.

یافته‌های این تحقیق نشان داده، باکتری منتخب WW6 می‌تواند فلز کادمیم را به میزان ۰/۷۲ میلی مول بر گرم وزن باکتری، حذف کند که در مقایسه با نیکل از توانایی بیشتری برخوردار است. و این توانایی وقتی در ارلن حاوی کادمیم، فلز نیکل را نیز اضافه گردد در یک غلظت و میزان برابر، اندکی کاهش پیدا می‌کند و به میزان حدود ۰/۴۷ میلی مول بر گرم وزن باکتری می‌رسد. این یافته ها نشان داد برای فلز نیکل بیشینه توانایی جذب بوسیله باکتری در حدود ۰/۶۳ میلی مول بر گرم زیست‌توده دیده شده است. اگر در ارلنی که واجد نیکل است، فلز کادمیم اضافه گردد، میزان توانایی باکتری کاهش یافته و به ظرفیت ۰/۴۸ میلی مول بر گرم وزن زیست‌توده رسیده است. همچنین کاهشی که درتوانایی حذف فلز کادمیم دیده شده از کاهشی که در توانایی حذف نیکل دیده شده است بیشتر است وبه بیان ساده‌تر در حالت دوتایی کادمیم کاهش جذب بیشتری از نیکل را نشان داده‌است. به بیانی دیگر در سطح باکتری با افزایش تراکم فلز تغییری در جهت افزایش سطح رخ نخواهد داد یا قابل ملاحظه نمی‌باشد لذا بعد از رسیدن به حد اشباع کاهشی در جذب دیده می‌شود.

در ادامه برای بررسی اینکه فرایند از هم دمایی مدل لانگمویر پیروی می‌کند پارامترها بر اساس رابطه $1/q_e$ نسبت به $1/C_e$ بدست آورده و پارامترهای این مدل در حالت‌های جذب انفرادی و جذب دوتایی مشاهده گردید. شکل ۴ نمایشگر تمام فرایند هم دمایی موثر بر پدیده جذب است که بایستی در یک فرایند جذب زیستی در ارتباط با واکنش بین جاذب زیستی و جذب شونده‌هایی مانند فلز سمی و سنگین دانست تا بر این اساس پارامترهای دیگر را تفسیر و ادامه آزمایش‌ها را در سطح آزمایشگاهی و حتی در مقیاس

**جدول ۳ - پارامترهای اصلی مدل هم‌دمایی لانگمویر برای حذف فلزهای کادمیم، نیکل توسط باکتری منتخب WW6**

| یون‌ها | مدل لانگمویر | | | مدل فرندریچ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $q_m$ (mmol/g) | $b_L$ (L/mmol) | $R^2$ | $K_F$ | N | $R^2$ |
| نیکل | ۰/۶۲۸ | ۱۷/۹۲۱ | ۰/۹۹۲ | ۰/۵۷۱ | ۱/۷۱۸ | ۰/۹۶۱ |
| کادمیم | ۰/۷۲۳ | ۲۶/۵۹ | ۰/۹۹۱ | ۰/۴۵۳ | ۱/۶۲۱ | ۰/۹۷۲ |
| نیکل (با کادمیم) | ۰/۴۷۰ | ۳۰/۳۹ | ۰/۹۹۳ | ۰/۱۵۴ | ۱/۵۳۷ | ۰/۹۸۱ |
| کادمیم (با نیکل) | ۰/۴۸۰ | ۲۱/۹۲ | ۰/۹۹۳ | ۰/۲۸۷ | ۱/۳۲۴ | ۰/۹۶۵ |

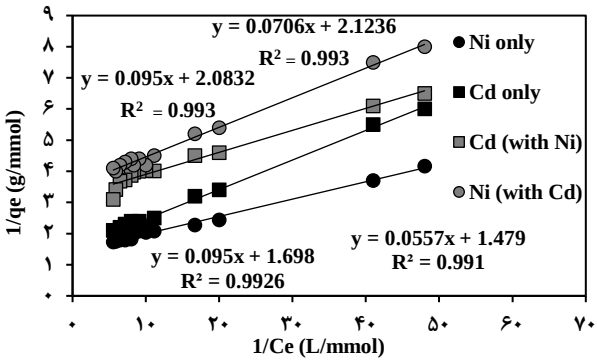



**شکل ۲ - تاثیر میزان فلزهای مورد مطالعه (کادمیم، نیکل به حالت‌های تکی و باینری) در ظرفیت جذب فلز بوسیله باکتری *باسیلوس* منتخب WW6 (میزان باکتری ۰/۱ گرم بر لیتر، مدت زمان تماس ۳ ساعت، pH برابر ۶، دما ۳۷ درجه سلسیوس، دور شیکر ۱۵۰ دور در دقیقه)**

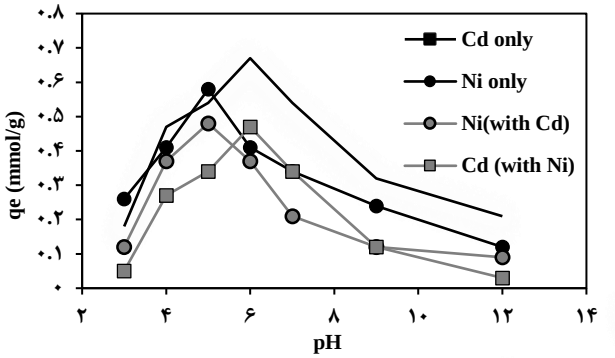
نیمه صنعتی و صنعتی پیش بینی کرد. همانگونه که در شکل مذکور نمایش داده شده است، پارامترهایی مانند $q_m$ که نماینده بیشترین ظرفیت جذب می‌باشد، $b_L$ ثابت لانگمویر بر واحد لیتر بر میلی مول، $R^2$ فاکتوری موثر در نشان دادن اینکه مدلی که جذب از آن تبعیت می‌کند کدام است بر اساس عدد $R^2$ در معادله لانگمویر و مقایسه آن با این عدد در هم دمایی فروندلیچ، مشخص گردید هم دمایی این جذب از مدل لانگمویر پیروی می‌کند و بطوریکه این واحد برای جذب نیکل در لانگمویر ۰/۹۹۲ بوده و همین فاکتور در مدل فروندلیچ ۰/۹۶۱ بوده است. همین گونه برای جذب فلز کادمیم و همچنین حالت‌های دو تایی دوفلز نیز از مدل لانگموییر پیروی می‌کند (شکل های ۲، ۳ و جدول ۳).

### یافته‌های مربوط به تاثیر فاکتور pH بر فرایند جذب زیستی فلزهای کادمیم، نیکل بوسیله جدایه منتخب WW6

یافته‌های این تحقیق بر مبنای تشکیل محلول‌های با pH های مختلف بین ۳ تا ۱۲ بوده است و اثر آن بصورت تکی و دو تایی مورد بررسی قرار گرفت. بهینه pH برای فلزهای کادمیم،

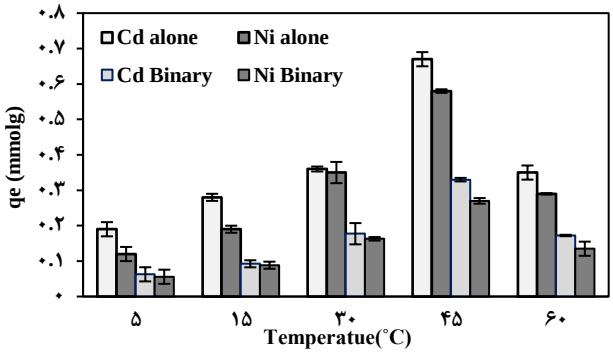



**شکل ۳ - بررسی فرایند هم‌دمایی مدل لانگمویر بر جذب فلزهای کادمیم، نیکل در حالت‌های تکی و دوتایی بصورت خطی( ۱/qe نسبت به ۱/Ce) بوسیله باکتری منتخب WW6 (میزان باکتری ۰/۱ گرم بر لیتر، مدت زمان تماس ۳ ساعت، pH برابر ۶، دما ۳۷ درجه سلسیوس، دور شیکر ۱۵۰ دور در دقیقه، میزان فلزها ۵ میلی‌گرم بر لیتر)**

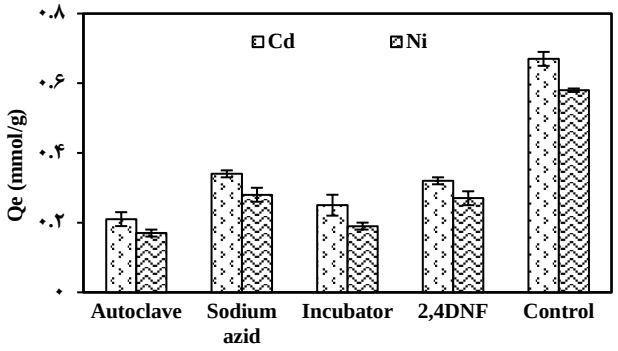



**شکل ۴ - بررسی فرایند تاثیر pH بر جذب فلزهای کادمیم، نیکل در حالت‌های تکی و دو تایی بوسیله جدایه منتخب (میزان باکتری ۰/۱ گرم بر لیتر، مدت زمان تماس ۳ ساعت، دما ۳۷ درجه سلسیوس، دور شیکر ۱۵۰ دور در دقیقه، میزان فلزها ۵ میلی‌گرم بر لیتر)**

نیکل به حالت تکی به ترتیب، ۷/۵، ۵/۵ بوده است. نتایج در شکل ۴ نشان داده شده است. از دلایل عدم توفیق جذب زیستی در محلول های فلزی دارای pH بالای ۹ شاید به دلیل تشکیل رسوب های فلزی باشد و خود به خود از میزان فلز در دسترس جاذب‌های زیستی کاسته می‌شود. درpH های پایین نیز شاید رقابت‌هایی که بین فلزها از یک طرف و یون هیدروژن مثبت در محلول پیش می‌آید از توان جذب زیست توده در مقایسه با زمانی که فقط باکتری و فلز می‌باشد کاسته شده است. از طرفی در حالت باینری شاید رقابتی در بین فلزها اتفاق افتاده و در نتیجه گروه‌های درگیر در سطح باکتری تعداد معین و مشخصی بوده لذا کاهشی در جذب نیز رخ داده و به عنوان مثال برای فلز کادمیم در شرایط تکی در محلول در pH های زیر شش کاهش




**شکل ۵ - تاثیر دمای محلول بر پدیده جذب فلزهای کادمیم، نیکل بوسیله جدایه منتخب WW6 (میزان باکتری ۰/۱ گرم بر لیتر، مدت زمان تماس ۳ ساعت، pH برابر ۶، دور شیکر ۱۵۰ دور در دقیقه، میزان فلزها ۵ میلی‌گرم بر لیتر)**




**شکل ۶ - تاثیر ترکیبات غیر فعال کننده جاذب زیستی در فرایند جذب (فلزهای کادمیم، نیکل) بوسیله باکتری منتخب WW6 (میزان باکتری ۰/۱ گرم بر لیتر، مدت زمان تماس ۳ ساعت، دما ۳۷ درجه سلسیوس، دور شیکر ۱۵۰ دور در دقیقه، pH برابر ۶، میزان فلزها ۵ میلی‌گرم بر لیتر)**

در میزان توانایی دیده شده ولی وقتی pH آن به حدود ۷ رسیده بیشینه جذب رخ داده و بعد از آن با شیب ملایم‌تری میزان جذب رو به کاستی رفته است.

### یافته‌های مربوط به تاثیر دمای محیط محلول بر توانایی جذب زیستی فلز های کادمیم، نیکل در جدایه منتخب WW6

دماهای مورد مطالعه در این طرح ۵، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ درجه سلسیوس بوده است. دلیل انتخاب این دماهای متفاوت بررسی شرایط استفاده این جاذب در سطح و مقیاس صنعتی بوده که آیا می‌تواند یک کاندیدای مناسبی باشد. یافته‌ها در شکل ۵ نشان داده شده است، برای فلز کادمیم و نیکل دمای بهینه برای جذب عدد ۴۵ درجه سلسیوس بوده است و با افزایش دما شاید کنش و واکنش بین دو ترکیب جاذب زیستی و جذب شونده بیشتر شده و فرایند با افزایش راندمان همراه گردد. میزان تماس بیشتر شده و خوشبختانه در دماهای میانه بین ۱۵ تا ۵۰ درجه سلسیوس میزان حذف هر دو فلز قابل قبول است و به بیانی دیگر در صورت استفاده‌های صنعتی، فقط فاکتور مدت زمان اتصال بین جذب شونده ها و جاذب زیستی را افزایش داد، و حذف فلزهای مورد مطالعه بخوبی صورت خواهد گرفت.

### یافته‌های بدست آمده برای تعیین مکانیسم فعال یا غیر فعال جذب زیستی فلزهای کادمیم و نیکل بوسیله جدایه منتخب WW6

برای غیر فعال کردن زیست‌توده باکتریایی از دو ترکیب شیمیایی سدیم آزید و ۲و۴ دی نیتروفنول از یک طرف و فرایند اتوکلاو و انکوباتور از طرف دیگر در مراحل بعدی استفاده گردیده است. دو فرایند اول باکتری را غیر فعال می‌کنند ولی باکتری بگونه‌ای برگشت ناپذیز وارد فاز مرگ نمی‌شود ولی دو پدیده دوم باکتری را قطعا از بین خواهد برد و بصورت برگشت ناپذیر از بین خواهد رفت و می‌میرد. امروزه سدیم آزید به عنوان ترکیب شیمیایی جهش‌زا قلمداد می‌گردد و در مسیر انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون باکتری، توقف انتقال الکترون صورت گرفته و در ادامه فرایند فسفوریلاسیون متوقف می‌گردد. به بیانی ساده تر انتقال الکترون متوقف و تولید ATP نیز متوقف می‌گردد. در خصوص ترکیب ۲ و۴ دی نیترو فنل انتقال الکترون صورت میگیرد ولی فرایند فسفوریلاسیون رخ نمی‌دهد و ATP تولید نمی‌گردد. یافته‌های این آزمایش در شکل ۶ نمایش داده شده است.

با ملاحظه شکل فوق بیشترین تاثیر در کاهش جذب فلزهای کادمیم، نیکل با تیمار اتوکلاو دیده شده است و همه این جذب‌ها بیشتر از نصف کم شده است ولی هنوز جذب فلزها بصورت قابل ملاحظه‌ای دیده شده است. تیمارهای سدیم آزید و انکوباتور و دی نیترو فنل شباهت رفتاری وتاثیر هم‌اندازه را در کاهش جذب نشان داده‌اند. لازم به ذکر است فرایند اتوکلاو علاوه بر کشتن باکتری باعث می‌گردد ساختار باکتری و پوشش باکتری تحت تاثیر قرار گیرد وشاید تخریب اساسی در آن ساختارها رخ دهد. لذا تاثیر اثر اتوکلاو قابل پیش‌بینی بوده است.

### مطالعه و بررسی فرایند واجذب، بوسیله ترکیبات جداکننده فلزها

در این آزمایش به این بخش از فرایند مطالعه جذب زیستی یعنی توانایی استفاده چندین باره جاذب زیستی پرداخته شده است. در این فرایند از ترکیبات رهاساز مؤثری، مانند: اتیلن دی آمین ترا

**جدول ۴ - پارامترهای اصلی برای فرایند روش سطح پاسخ**

| متغیرهای غیروابسته | نماد ریاضی | سطح | | |
|---|---|---|---|---|
| | | −۱ | ۰ | +۱ |
| pH | $X_1$ | ۵ | ۶ | ۷ |
| غلظت زیست توده (g/L) | $X_2$ | ۰/۵ | ۱/۵ | ۲/۵ |
| دما (˚C) | $X_3$ | ۳۵ | ۴۰ | ۴۵ |

**جدول ۵ - یافتن نواحی بهینه سطح پاسخ براساس سه متغیر**

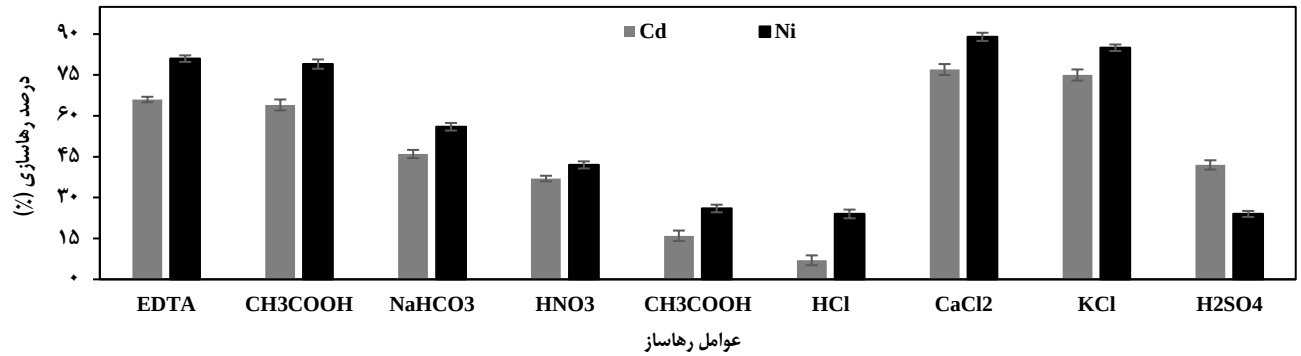
| Ex. No | pH | غلظت زیست توده (g/L) | دما (˚C) | $X_1$ | $X_2$ | $X_3$ | $q_{cd}$(mmol/g) | $q_{ni}$(mmol/g) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ۱ | ۷ | ۲/۵ | ۴۵ | +۱ | +۱ | +۱ | ۰/۳۳۱ | ۰/۲۶۴ |
| ۲ | ۷ | ۰/۵ | ۴۵ | +۱ | −۱ | +۱ | ۰/۳۱۲ | ۰/۲۸۷ |
| ۳ | ۵ | ۰/۵ | ۳۵ | −۱ | −۱ | −۱ | ۰/۲۴۵ | ۰/۲۸۴ |
| ۴ | ۶ | ۰/۵ | ۴۰ | ۰ | −۱ | ۰ | ۰/۳۳۱ | ۰/۲۸۱ |
| ۵ | ۶ | ۱/۵ | ۴۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰/۳۴۱ | ۰/۲۵۲ |
| ۶ | ۷ | ۲/۵ | ۳۵ | +۱ | +۱ | −۱ | ۰/۲۲۱ | ۰/۲۷۵ |
| ۷ | ۵ | ۰/۵ | ۴۵ | −۱ | −۱ | +۱ | ۰/۲۹۳ | ۰/۲۷۹ |
| ۸ | ۵ | ۱/۵ | ۴۰ | −۱ | ۰ | ۰ | ۰/۲۲۹ | ۰/۲۳۶ |
| ۹ | ۷ | ۱/۵ | ۴۰ | +۱ | ۰ | ۰ | ۰/۲۴۹ | ۰/۲۲۱ |
| ۱۰ | ۵ | ۲/۵ | ۳۵ | −۱ | +۱ | −۱ | ۰/۲۱۷ | ۰/۲۴۲ |
| ۱۱ | ۶ | ۱/۵ | ۳۵ | ۰ | ۰ | −۱ | ۰/۳۳۹ | ۰/۲۵۶ |
| ۱۲ | ۵ | ۲/۵ | ۴۵ | −۱ | +۱ | +۱ | ۰/۳۱۹ | ۰/۲۳۹ |
| ۱۳ | ۷ | ۰/۵ | ۳۵ | +۱ | −۱ | −۱ | ۰/۳۲۸ | ۰/۲۳۹ |
| ۱۴ | ۶ | ۱/۵ | ۴۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰/۳۴۴ | ۰/۲۴۹ |
| ۱۵ | ۵ | ۰/۵ | ۴۰ | −۱ | −۱ | +۱ | ۰/۲۹۱ | ۰/۲۷۷ |
| ۱۶ | ۵ | ۱/۵ | ۳۵ | ۰ | +۱ | ۰ | ۰/۲۷۴ | ۰/۲۵۶ |

استیک اسید[۱]، اسید نیتریک[۲]، اسید استیک[۳]، پتاسیم کلرید[۴]، هیدروژن کلراید، اسید سولفوریک، سدیم بی کربنات[۵]، استفاده گردید. بعد مدت زمان تماس محلول فلزی حاوی باکتری و فلزهای مورد مطالعه، باکتری‌ها را جداسازی سپس اثر عوامل رهاساز بر آن‌ها بررسی گردید. همانگونه که در شکل ۷ نشان داده شده است، برای باکتری و عوامل رهاساز مورد مطالعه برای جداسازی فلز کادمیم مهمترین عوامل رهاساز عبارتند از کلرید کلسیم با بالاترین رهاسازی، سپس کلرید پتاسیم و مرحله بعد اتیلن دی آمین تترا استیک اسید قرار دارد. و درصد رهاسازی به ترتیب برای عوامل رهاساز مورد مطالعه ۷۷، ۷۵ و ۶۶ درصد بوده است. برای رهاسازی فلز نیکل بالاترین درصد رهاسازی دیده شده است و این میزان در حدود ۸۹، ۸۵، ۸۱ و ۷۹، به ترتیب برای کلرید کلسیم، کلرید پتاسیم، اتیلن دی آمین تترا استیک اسید و اسید استیک دیده شده است.

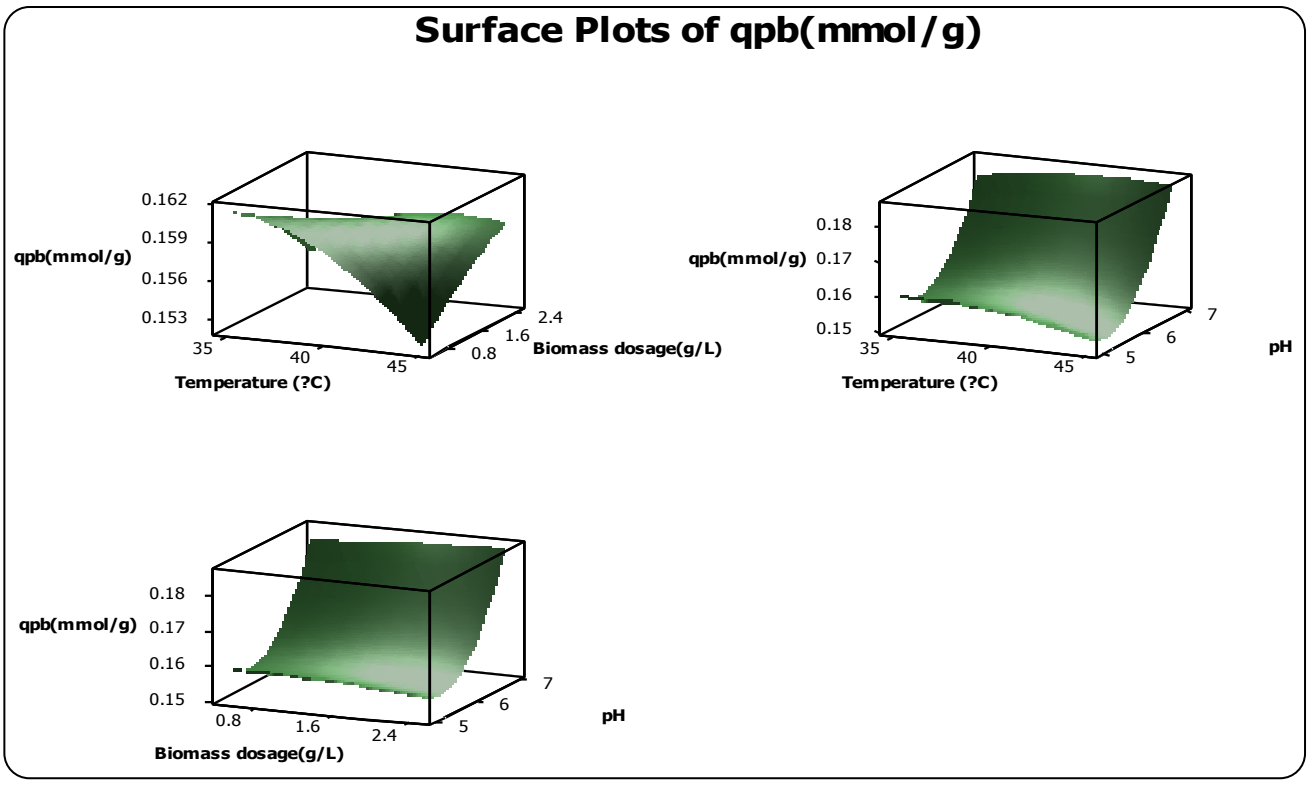
## طراحی آزمایش به روش سطح پاسخ (RSM)

در این مطالعه اثر متغیرهای مستقل شامل $X_1$ (pH)، $X_2$ غلظت جاذب زیستی باکتریایی (زیست‌توده) و $X_3$ دما، در سه سطح در شکل زیر نشان داده شده است. شش تکرار نقطه مرکزی برای تخمین خطای آزمایش استفاده شد. همانطور که در جداول ۴ و ۵ و همچنین شکل‌های ۸ و ۹ نتایج نشان داده شده است. طبق طراحی آزمایشی که توسط نرم افزار دیزاین اکسپرت (ویرایش هفتم)[۶] انجام شد ۱۶ آزمایش برای یافتن نواحی بهینه پاسخ به دست آمد.

(۱) Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)
(۲) Nitric acid ($HNO_3$)
(۳) Acetic acid ($CH_3COOH$)
(۴) KCl
(۵) Sodium bicarbonate ($NaHCO_3$)
(۶) Design Expert 7.0




**شکل ۷ - تاثیر عوامل رهاساز برای نقش آن‌ها در جداسازی فلزها از جاذب زیستی منتخب (میزان باکتری ۰/۱ گرم بر لیتر، مدت زمان تماس ۳ ساعت، دما ۳۷ درجه سلسیوس، دور شیکر ۱۵۰ دور در دقیقه، pH برابر ۶، میزان فلزها ۵ میلی‌گرم بر لیتر) WW6**



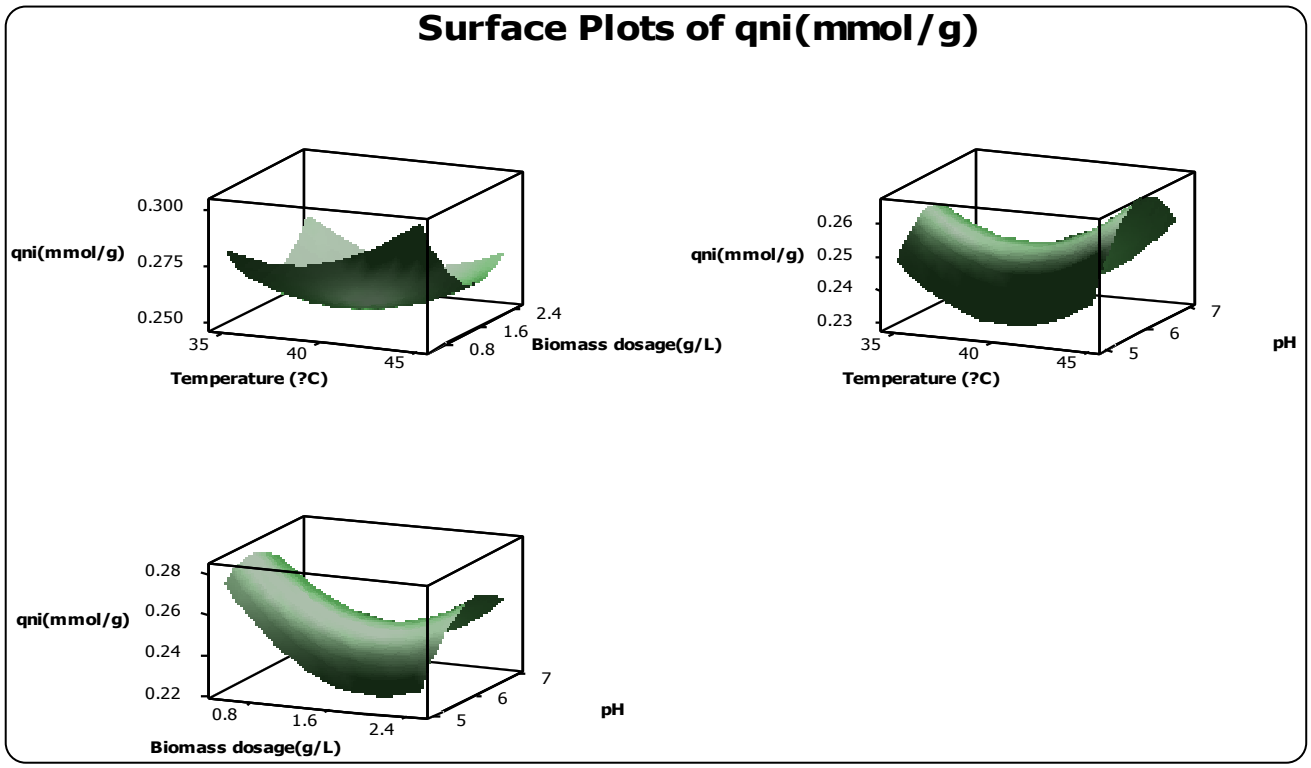

**شکل ۸ - منحنی ۳ بعدی نشان‌دهنده تاثیر pH، دما و غلظت باکتری *باسیلوس* بر جذب فلز نیکل توسط جدایه منتخب WW6**

نتایج حاصل از مشاهده شکل های ۸ و ۹ در خصوص پیش بینی بهینه پارامترهای بدست آمده (دما، غلظت باکتری و pH) با آزمایش های انجام شده قبلی همخوانی داشته است. رسم سه بعدی سطح پاسخ در شکل‌ۀای فوق ظرفیت جذب را نشان می‌دهد. با توجه به نمودار های سطح پاسخ شرایط بهینه به دست آمده با آزمایش‌های بررسی تک‌پارامتری همخوانی داشته است.

برای مقایسه بین جاذب‌های زیستی در فرایند جذب و حذف فلزهای کادمیم و نیکل، با جدایه منتخب این تحقیق، جدول ۶ تهیه گردید. نتایج این تحقیق نشان داده شده ،که باکتری *باسیلوس* مورد مطالعه در مقایسه با میکروارگانیسم های دیگر دارای راندمان حذف فلزهای کادمیم و نیکل مناسب میباشد. نتایج نشان داده شده، زیست توده *باسیلوس* قابلیت جذب قابل قبولی را در حضور سایر یون‌های موجود در آب شهری نشان داده‌است. این امر تاییدی بر این موضوع است که این جاذب علاوه بر محیط آزمایشگاهی، توانایی قابل قبولی را برای جذب زیستی در محیط طبیعی و همچنین سایر فلزات دارد [۱۵].

**جدول ۶ - مقایسه‌ای بین جاذب های زیستی جذب کننده فلزهای کادمیم، نیکل**

| ارگانیسم | یون ها | ظرفیت حذف فلز (mmol/g) | pH | مرجع |
|---|---|---|---|---|
| *Penicillium simplicissimum* | Cd (II) | ۰/۴۶ | ۶/۵ | [۱۶] |
| *Penicillium chrysogenum* | Ni (II) | ۰/۶۸ | ۶ | [۱۷] |
| *Enterobacter sp.* | Cd (II) | ۰/۴۱ | ۶ | [۱۸] |
| *Fucus vesiculosus* | Ni (II) | ۰/۵۵ | ۳/۵ | [۱۹] |
| *Ascophyllum nodosum* | Ni (II) | ۰/۶۹ | ۳/۵ | [۲۰] |
| *Bacillus thuringiensis* | Ni (II) | ۰/۷۷ | ۶ | [۲۱] |
| *Sargassum filipendula* | Cd (II) | ۰/۶۶ | ۴/۵ | [۲۱] |
| *Bacillus thuringiensis* | Ni (II) | ۰/۷۴ | ۷ | [۲۲] |
| *Bacillus thuringiensis* | Cd (II) | ۰/۵۲ | ۶ | [۲۲] |
| *Escherichia coli* | Ni (II) | ۰/۱۳ | ۳ | [۲۳] |
| *Ulva lactuca* | Cd (II) | ۰/۳۸ | ۵/۵ | [۲۳] |
| *Pseudomonas putida* | Cd (II) | ۰/۸ | ۶ | [۱۶] |
| *Bacillus* | Cd (II) | ۰/۷۲ | ۶ | این تحقیق |
| *Bacillus* | Ni (II) | ۰/۶۲ | ۵/۵ | این تحقیق |




**شکل ۹ - منحنی ۳ بعدی نشان‌دهنده تاثیر pH، دما و غلظت باکتری *باسیلوس* بر جذب فلز نیکل توسط جدایه منتخب WW6**

## نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد از بین ۴۰ سویه ۱۲ سویه در مرحله اول مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت جدایه شماره ۶ بر اساس آزمایش‌های اولیه دارای بهترین راندمان بوده که برای فرایند بعدی مورد استفاده قرار گرفته است. این جدایه دارای بالاترین ظرفیت جذب برای فلز سمی و سنگین نیکل و کادمیم بوده است. بر اساس آزمایش های ریخت شناسی و بیوشیمیای این جدایه به جنس *باسیلوس* نزدیک بوده است. با توجه به تست حداقل غلظت مهاری و آنتی بیوگرام

باکتری *باسلوس منتخب*، این جدایه تا غلظت ppm۱۵۰۰ از کادمیم و ppm۲۲۰۰ از نیکل مقاوم بوده است. نتایج این تحقیق نشان داد که بهینه pH برای حذف فلزهای کادمیم و نیکل بوسیله باکتری *باسیلوس* جداسازی شده به ترتیب، ۶/۵ و ۵/۵ بوده است. راندمان جذب فلزهای کادمیم و نیکل به ترتیب ۰/۷۲ و ۰/۶۳ میلی مول بر گرم بوده است. درجه حرارت برای حذف فلز کادمیم و نیکل بوسیله باکتری *باسیلوس* حدود ۴۵ درجه سلسیوس بوده است. ایزوترم جذب برای هر دو فلز به ایزوترم لانگمویر شباهت داشته که نشان از تک لایه بودن فرایند جذب سطحی دارد و سینتیک آن مطابق مدل سینتیک درجه دوم بوده است و مقدار زیست توده باکتری *باسیلوس* برای این فرایند در حدود ۱/۵ گرم بر لیتر بدست آمده است.

*تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۲۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۰۱*

## سپاس‌گزاری

" این پروژه با حمایت مالی مرکز مطالعات و همکاری های علمی بین المللی وزارت علوم تحقیقات و فناوری انجام شده است"؛ لذا نویسندگان این مقاله از مسئولان محترم این سازمان در وزارت علوم تحقیقات و فناوری کمال تشکر و امتنان را دارند.

## مراجع

[1] Dada A.O., Olalekan A.P., Olatunya A.M., Dada O., Langmuir, Freundlich, Temkin and Dubinin–Radushkevich Isotherms Studies of Equilibrium Sorption of $Zn^{2+}$ unto Phosphoric Acid Modified Rice Husk, *IOSR j. appl. Chem.*, **3(1):** 38-45 (2012).

[2] Bouabidi Z.B., El-Naas M.H., Zhang Z., Immobilization of Microbial Cells for the Biotreatment of Wastewater: A Review, *Environ Chem Lett.*, **17(1):** 241-257 (2019).

[3] Yaashikaa P.R., Kumar P.S., Saravanan A., Vo D.V.N., Advances in Biosorbents for Removal of Environmental Pollutants: A Review on Pretreatment, Removal Mechanism and Future Outlook, *J. Hazard. Mater.*, **420:** 126596 1-16 (2021).

[4] Meena M., Sonigra P., Yadav G., Barupal T., "Removal of Emerging Contaminants through Microbial Processes", Wastewater Treatment Techniques: An Introduction, Springer, Singapore, 161-182 (2021).

[5] Narayanan C.M., Narayan V., Biological Wastewater Treatment and Bioreactor Design: A Review, *Sustain. Environ. Res.*, **29(1):** 1-17 (2019).

[6] Stanbury P.F., Whitaker A., Hall S.J., "In Principles of Fermentation Technology", Elsevier, 687–723 (2017).

[7] Soni-Bains N.K., Singh A., Kaur J., Pokharia A., Ahluwalia S.S., "Perspectives of Bioreactors in Wastewater Treatment", Springer, Singapore, 53-68 (2017).

[8] Safari M., Ahmady-Asbchin S., Biosorption of Zinc from Aqueous Solution by Cyanobacterium Fischerella Ambigua ISC67: Optimization, Kinetic, Isotherm and Thermodynamic Studies, *Water Sci. Technol.*, **78(7):** 1525-1534 (2018).

[9] Ghafuri taleghani H., Darvishi A., Biological Removal of Cobalt Heavy Metal from Mahshahr Petrochemical Wastewater Using *Saccharomyces cerevisiae* Yeast, *Iran. J. Chem. Chem. Eng. (IJCCE)*, **40(1):** 174-165 (2022).

[10] Rajivgandhi G., Ramachandran G., Chackaravarthi G., Maruthupandy M., Quero F., Chelliah C.K., Manoharan N., Alharbi N.S., Kadaikunnan S., Khaled JM, Li W.J., Metal Tolerance and Biosorption of Pb Ions by *Bacillus cereus* RMN 1 (MK521259) Isolated from Metal Contaminated Sites, *Chemosphere*, **308(1):** 136270 (2022)

[11] Bastami K.D., Bagheri H., Haghparast S., Soltani F., Hamzehpoor A., Bastami M.D., Geochemical and Geo-Statistical Assessment of Selected Heavy Metals in the Surface Sediments of the Gorgan Bay, Iran, *Mar. Pollut. Bull.*, **64(12):** 2877-2884 (2012).

[12] Flouty R., Estephane G., Bioaccumulation and Biosorption of Copper and Lead by Unicellular Algae *Chlamydomonas reinhardtii* in Single and Binary Metal Systems, *J. Environ. Manage.*, **11:** 106-114 (2012).

[13] Masoumi F., Khadivinia E., Alidoust L., Mansourinejad Z., Shahryari S., Safaei M., Noghabi K.A., Nickel and Lead Biosorption by *Curtobacterium sp. FM01*, an Indigenous Bacterium Isolated from Farmland Soils of Northeast Iran, *J. Environ. Chem. Eng*., **4(1):** 950-957 (2016).

[14] Alman-Abad Z.S., Hossein Pirkharrati H., Maleki-Kakelar M., Application of Response Surface Methodology for Optimization of Zinc Elimination from a Polluted Soil Using Tartaric Acid, *Adsorpt. Sci. Technol*., **38(3-4):** 79-93 (2020)

[15] Sayyadi S., Ahmady-Asbchin S., Kamali K., Tavakoli N., Thermodynamic, Equilibrium and Kinetic Studies on Biosorption of $Pb^{+2}$ from Aqueous Solution by *Bacillus pumilus sp. AS1* Isolated from Soil at Abandoned Lead Mine, *J. Taiwan. Inst. Chem. Eng.*, **80:** 701-708 (2017).

[16] Pardo R., Herguedas M., Barrado., Vega M., Biosorption of Cadmium, Copper, Lead and Zinc by Inactive Biomass of *Pseudomonas putida*, *Anal. Bioanal. Chem.*, **376:** 26-32 (2003).

[17] Davis A., Volesky B., Mucci A., A Review of the Biochemistry of Heavy Metals Biosorption by Brown Algae, *Water Res.*, **37:** 4311–4330 (2003).

[18] Oztürk A., Removal of Nickel from Aqueous Solution by the Bacterium *Bacillus thuringiensis*, *J. Hazard. Mater.*, **147(1-2):** 518-523 (2007).

[19] Padmavathy V., Vasudevan P., Dhingra S.C., Biosorption of Nickel (II) Ions on *Baker's* Yeast, *Process Biochem*., **38(10):** 1389-1395 (2003).

[20] Nelson P.O., Chung A.K., Hudson M.C., Factors Affecting the Fate of Heavy Metals in the Activated Sludge Process, *J. Water Pollut. Control Fed*., 1323-1333 (1981).

[21] Mogerman W.D., Metallurgical Nickel Analysis, *Ind. Eng. Chem.*, **44(5):** 971-973 (1952).

[22] Leusch A., Holan Z.R., Volesky B., Biosorption of Heavy Metals (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) by Chemically-Reinforced Biomass of Marine Algae, *Chem. Technol. Biotechnol.*, **62(3):** 279-288 (1995).

[23] Fomina M., Gadd G.M., Biosorption: Current Perspectives on Concept, Definition and Application, *Bioresour. Technol.*, **160:** 3-14 (2014).