

بررسی پارامترهای مؤثر بر جذب فلز کادمیوم توسط باکتری *Halomonas* (جداسازی شده از تالاب میانکاله استان گلستان)

چکیده

تالاب‌ها از جمله اکوسیستم‌های حساسی می‌باشند که امروزه به دلیل افزایش جمعیت و ورود پساب صنایع مختلف از قبیل کشاورزی، فلزکاری، پتروشیمی خصوصیات سنگین مختلف در آن‌ها بالا است. فلزات سنگین به دلیل پایداری و تجمع در جانداران می‌توانند منجر به تأثیرات اکولوژیکی زیادی در تالاب‌ها شوند. باکتری‌ها به دلیل سازگاری با طبیعت و نسبت سطح به حجم بالا برای جذب یون‌های فلزی از محیط آبی مناسباند. در این تحقیق از آب تالاب میانکاله در عمق ۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متری از سطح آب در ۵ ایستگاه در مهر ۱۳۹۴ نمونه‌برداری شد. مقاومت‌بین سویه گرم منفی نسبت به فلز کادمیوم از محیط کشت جداسازی شده بود. جهت تعیین اسیدیته، دما و شوری بهینه برای جذب فلز کادمیوم توسط باکتری *Halomonas* آزمایش‌ها به ترتیب در اسیدیته^۴، دمای^۵، شوری^۶ و در ماه‌های^۷ ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد و در غلظت‌های^۸ ۱۵ و ۲۰ درصد کلرید سدیم موردربرسی قرار گرفتند. درنهایت سنجش غلظت کادمیوم باقیمانده در محلول‌ها با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل AA240FS ساخت شرکت Varian آمریکا) انجام شد. همچنین گروه‌های عاملی مؤثر در جذب کادمیوم با استفاده از طیفسنجی FT-IR شناسایی گردید. نتایج نشان دادند این باکتری بهترین رشد را در شوری ۱۰٪ داشته و به غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم مقاوم بوده است. همچنین تحقیق حاضر نشان داد که بهینه جذب فلز کادمیوم توسط این باکتری در اسیدیته^۸، شوری^۸٪ و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد است. نتایج آنالیز FT-IR نشان داد که گروه‌های سطحی موثر این باکتری در جذب فلز کادمیوم شامل هیدروکسیل، آمید، کربونیل و الکان می‌باشند. این پژوهش نشان داد باکتری *Halomonas* جاذب زیستی مناسبی جهت حذف فلز کادمیوم از محیط‌های آبی می‌باشد؛ بنابراین، باکتری هالوموناس می‌تواند برای تصفیه پساب‌های حاوی غلظت بالایی از فلز کادمیوم و همچنین در بازیافت این فلز در صنایع مختلف بکار رود.

واژه‌های کلیدی: جذب زیستی، فلز کادمیوم، باکتری هالوموناس، تالاب میانکاله.

مقدمه

حضور فلزات سنگین اثرات سوء اکولوژیک بسیاری را در اکوسیستم‌های آبی و بالاخص در تالاب‌ها که یک محیط آبی بسته‌تری نسبت به دریاها می‌باشند در پی دارد. فلزات سنگین به دلیل پایداری و عدم تجزیه زیستی و در بدن موجودات آبزی تجمع یافته و به سطوح بالاتر زنجیره غذایی انتقال می‌یابد که درنهایت ممکن است منجر به آسیب‌های بافتی و یا تشید عوامل بیماری‌زا در موجودات آبزی و بخصوص انسان‌ها گردد. از مهم‌ترین منابع تخلیه فلزات سنگین به محیط‌زیست آبی پساب صنایع مختلفی از قبیل صنایع فلزکاری، نفت و پتروشیمی می‌باشند (Hussein *et al.*, 2009)، در این میان یکی از آلاینده‌های فلز سمی کادمیوم است. وجود این عنصر و ترکیبات آن حتی در مقداری بسیار کم در صنایع خط‌ناک است و باید تا حد امکان حذف شود، تاکنون مطالعات گستره‌ای در مورد روش‌های پاکسازی محیط از فلزات سنگین

صورت گرفته است. روش‌های فیزیکی و شیمیایی نظیر تبادل یونی، اسمز معکوس و رسوب‌دهی شیمیایی به طور گسترده‌ای برای حذف فلزات بکار گرفته شدن (Mulligan *et al.*, 2001)؛ اما بیشتر این روش‌ها به دلیل پرهزینه بودن، غیرانتخابی بودن و اثربخشی محدود بخصوص در غلظت پایین آلدگی و بعضًا ممکن است تولید ماده آلدۀ جدیدی نیز بکند (Volesky, 2001). فرآیند جذب زیستی فلّاوری جدیدی در زمینه حذف آلاینده‌ها از جمله فلزات سنگین بر اساس توانایی میکرووارگانیسم‌ها است. میکرووارگانیسم‌ها به دلیل توانایی در ثبت یون‌های فلزی، سازگاری با محیط‌های طبیعی و کم‌هزینه بودن برای فرآیند جذب زیستی بسیار مناسب بوده است (Limcharoensuk *et al.*, 2015). همچنین میکرووارگانیسم‌هایی مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها به دلیل نسبت بالای سطح به حجم و برخورداری از سطوح فعال جذبی، اندازه کوچک و توانایی رشد بالا جاذبهای زیستی مناسبی محسوب می‌گردند (Wang and Chen, 2009). باکتری‌ها در بیشتر موارد با دو سازوکار متفاوت نسبت به حذف یون‌های محیط پاسخ می‌دهند: سازوکار وابسته به انرژی متابولیک یا ذخیره‌سازی زیستی که مبتنی بر جذب فعال است و سازوکار غیر وابسته به انرژی متابولیک یا جذب زیستی که در آن جذب به صورت غیرفعال و بیشتر از طریق نیروهای فیزیکو‌شیمیایی صورت می‌گیرد (بخشی و همکاران, ۱۳۸۸). باکتری‌های هالوفیل (نمک دوست‌ها) به دلیل ویژگی‌هایی مانند رشد سریع، نیاز غذایی کم و توانایی استفاده از ماکرومولکول‌های گوناگون به عنوان تنها منبع دریافت انرژی و عدم ایجاد آلدگی در محیط‌زیست برای استفاده در فرآیندهای صنعتی مطلوب هستند (Sanchez-por, 2003). این باکتری‌ها میکرووارگانیسم‌هایی هستند که قابلیت زنده ماندن در آب‌شور را دارند. آن‌ها شرایط سخت شوری را تحمل می‌کنند و ظرفیت تنظیم فشار اسمزی را دارند درنتیجه در برابر اثرات تخریبی نمک در محیط‌شان مقاومت می‌کنند (Das Sarma and Arora, 2001).

فاکتورهای محیطی از جمله دما، شوری و اسیدیتۀ بر رشد میکرووارگانیسم‌ها اثر دارند. بر این اساس برخی از میکرووارگانیسم‌ها قادر به زندگی در زیستگاه‌هایی با شرایط محیطی به شدت متغیر نظیر درجه حرارت‌های بالا و پایین، محیط‌های قلیایی و اسیدی و غلظت‌های مختلف نمک می‌باشند (Ryckeboer *et al.*, 2003).

اسیدیتۀ یکی از مهم‌ترین فاکتورهای محیطی است و نقش مهمی در جذب زیستی دارد. میزان اسیدیتۀ بر فعالیت گروه‌های عاملی در سطح میکرووارگانیسم‌ها و در دسترس بودن یون‌های فلزی تأثیر می‌گذارد (Nomanbhay and Palanisamy, 2005). یکی دیگر از پارامترهای تأثیرگذار در جذب زیستی دما است چراکه برخی مطالعات صورت گرفته حاکی از آن است که با افزایش دما، فعالیت یون‌های فلزی در محلول افزایش می‌باید و درنتیجه به راحتی به سطح سلول متصل می‌شوند اما فرآیند جذب معمولاً در دمای بالا به دلیل هزینه بر بودن بکار گرفته نمی‌شود (Wang and Chen, 2006). همچنین مطالعات گذشته توسط Kulkarni و همکاران در سال ۲۰۱۴ و Liu and Huang در سال ۲۰۱۳ نشان‌دهنده اهمیت پارامتر شوری بر میزان جذب است که این امر می‌تواند به دلیل رقابت یون‌های کلرید سدیم با یون‌های فلزی در محل اتصال به گروه‌های عاملی باشد (بخشی و همکاران, ۱۳۸۶; Amoozegar *et al.*, 2012).

لذا هدف تحقیق حاضر بررسی اثرات پارامترهای اسیدیتۀ دما و شوری بر پتانسیل جذب فلز کادمیوم توسط باکتری هالوموناس جداسازی شده از تالاب میانکاله استان گلستان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از باکتری هالوموناس که از آب تالاب میانکاله که در بین عرض‌های جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۹ دقیقه و ۲۴ ثانیه الی ۳۶ درجه و ۵۶ دقیقه و ۴۵ ثانیه و طول جغرافیایی ۵۳ درجه و ۲۴ دقیقه و ۵۰ ثانیه الی ۵۴ درجه و ۱ دقیقه و ۲۰ ثانیه و در استان مازندران واقع شده است، در مهر ۱۳۹۴ نمونه‌برداری با استفاده از ظروف استریل در عمق ۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متری از سطح آب از ایستگاه جمع‌آوری و به

آزمایشگاه انتقال داده شدند. سپس در آزمایشگاه خالص‌سازی شدند. شناسایی باکتری و تعیین گرم آن به‌وسیله آزمایش‌های زیر بوده است:

الف) در این مرحله باکتری‌ها با روش خطی توسط لوپ استریل کشت داده شدند و کلئی‌های مختلف با استفاده از ریخت‌شناسی جداسازی شدند. باکتری‌های جداسازی شده بر سطح لام با گذران از شعله، به ترتیب محلول‌های کریستال ویوله، لوگول، الكل استون و سافرانین برای مدت ۱ دقیقه، ۱ دقیقه، ۵ تا ۷ ثانیه و ۳۰ ثانیه بر روی نمونه ریخته شده و در پایان هر مرحله، سطح نمونه با آب مقطر شسته شد. نمونه‌هایی که در زیر میکروسکوپ به رنگ قرمز مشاهده شده بودند به عنوان باکتری گرم منفی انتخاب شدند (Bergey et al., 1939).

ب) آزمایش‌های شناسایی تست‌های تشخیصی شامل، حرکت، تولید H_2S ، تولید اندول، TSI، متیل رد، وزز-پروسکوئر، آزمایش سیمون سیترات و ژلاتیناز صورت گرفته است (Jayachandra et al., 2012).

برای به‌دست‌آوردن بیومس باکتری منتخب، ابتدا سوبه موردنظر را در محیط کشت اختصاصی نمک‌دوست‌ها که حاوی محیط نوترینت براث (Broth nutrient) با غلظت نمکی ۱۰ درصد سدیم کلراید و با pH نزدیک به اسیدیته محیط نمونه‌برداری تلقیح شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار با ۱۸۰ دور در دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. با ساتریفیوژ کردن محیط کشت با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه بیومس باکتری به‌دست‌آمد سپس بیومس به‌دست‌آمد به‌وسیله آب دیونیزه (دوار تقطیر) سه بار شستشو داده شد (Masoumi et al., 2016).

برای بررسی اثر اسیدیته و تعیین اسیدیته بھینه، آزمایش در اسیدیته ۴، ۵، ۶، ۷، ۸ و ۹ مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا برای انجام این آزمایش محلولی حاوی ۶۰۵ سی‌سی آب دیونیزه و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فلز نیترات کادمیوم و در شوری ۱۰ درصد (کلرید سدیم) آماده‌سازی شد. سپس ارلن حاوی ۶۰۰ سی‌سی آب و فلز به ۶ ارلن ۲۵۰ سی‌سی تقسیم شد و اسیدیته هر کدام از ارلن‌ها توسط HCl و NaOH ۰/۱ نرمال بر روی ۴، ۵، ۶، ۷ و ۸ تنظیم شد و سپس جهت استریل کردن نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شدند. در مرحله بعد بیومس باکتری به نسبت ۱ گرم بر لیتر به ۶ ارلن مذکور افزوده گردید و سپس ارلن‌ها به مدت یک ساعت در انکوباتور شیکردار با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۷۰ دور بر دقیقه قرار گرفتند.

جهت بررسی دمای مؤثر، ۴۰۵ سی‌سی آب دیونیزه و ۱۵۰ گرم بر لیتر فلز نیترات کادمیوم با اسیدیته ۸ تهیه شد. بعداز آن با افزودن کلرید سدیم ۱۰ درصد شوری آن تنظیم شد و در مرحله بعد محلول آماده‌شده به ۴ ارلن ۲۵۰ سی‌سی به طور مساوی انتقال داده شد. سپس بیومس باکتری به نسبت ۱ گرم بر لیتر به ارلن‌ها افزوده گردید و در دماهای ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت در انکوباتور شیکردار با ۱۷۰ دور بر دقیقه گرماده شدند.

جهت بررسی شوری مؤثر، ۴۰۵ سی‌سی آب دیونیزه و ۱۵۰ گرم بر لیتر فلز نیترات کادمیوم با اسیدیته ۸ و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد آماده‌سازی شد. بعداز آن محلول آماده‌شده به ۴ ارلن ۲۵۰ سی‌سی به طور مساوی انتقال داده شد و سپس در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵ درصد و ۲۰ درصد کلرید سدیم قرار داده شدند. بیومس باکتری به نسبت ۱ گرم بر لیتر به آن افزوده گردید و بعد در شیکر با ۱۷۰ دور بر دقیقه با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت انکوبه شدند (Shirdam et al., 2006).

تمامی آزمایش‌های انجام‌شده در این تحقیق با دو تکرار انجام گردید و از تمامی آزمایش‌ها یک نمونه شاهد ۵ سی‌سی بالاصله بعد از آماده‌سازی محلول‌ها و قبل از در معرض قرار گرفتن تیمار در غلظت موردنظر جدا گردیده و به میزان ۱۰ سی‌سی بعد از پایان هر آزمایش با استفاده از سرنگ جدا گردیدند. سپس تمامی نمونه‌های حاصل، از فیلتر با مش ۰/۲۲ میکرومتر عبور داده شدند و سپس میزان کادمیوم باقیمانده در محلول با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل AA240FS شرکت Varian آمریکا) با سه تکرار اندازه‌گیری شدند.

جهت بررسی گروههای عاملی سطح سلول باکتری، ابتدا بیومس خشک باکتری بدون فلز و با حضور فلز کادمیوم موردنیاز است. بیومس باکتری به دو قسمت تقسیم شد. یک بخش جهت به دست آمدن بیومس باکتری بدون حضور فلز، به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار گرفته و خشک شد. بخش دیگر به محلولی حاوی آب دیونیزه و فلز کادمیوم اضافه شد و پس از گذشت مدت زمان لازم جهت جذب، سانتریفیوژ شده و به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت و خشک شد. بیومس‌های باکتری (با حضور فلز کادمیوم و بدون حضور فلز کادمیوم) را با پاتاسیم برمید خالص و خشک مخلوط کرده و به صورت قرص نازک و شفاف درآورده شدند. قرص‌های آماده شده جهت شناسایی گروههای عاملی با استفاده از دستگاه طیف‌سنج مادون‌قرمز (FT-IR) طیف گیری شدند (Masoumi *et al.*, 2009).

(2016; Zhou *et al.*, 2009)

نتایج

نتایج آزمایش‌های شناسایی و آزمون‌های بیوشیمیایی باکتری منتخب در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: مشخصات مورفولوژی و آزمون بیوشیمیایی باکتری منتخب.

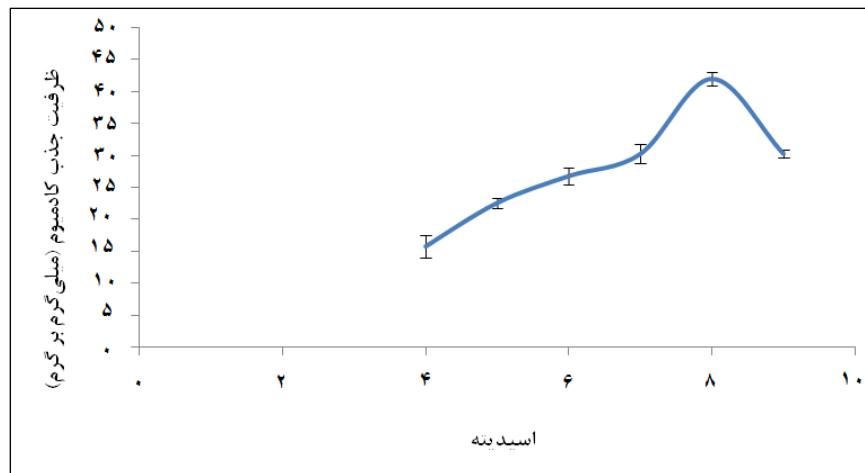
میله‌ای	شكل سلولی باکتری	رنگ آمیزی گرم
-	زرد	رنگ کلنی
-	H ₂ S	تولید
+		حرکت
K/K*	TSI (Triple Sugar Iron)	
-		تولید اندول
-		متیل رد
- **		وُز - پروسکوئر (Vp)
-		سیمون سیترات
-		هیدرولیز ژلاتین

*Alkaline slant/Alkaline butt (K/K)

i.e Red/Red = glucose, lactose and sucrose non-fermenter

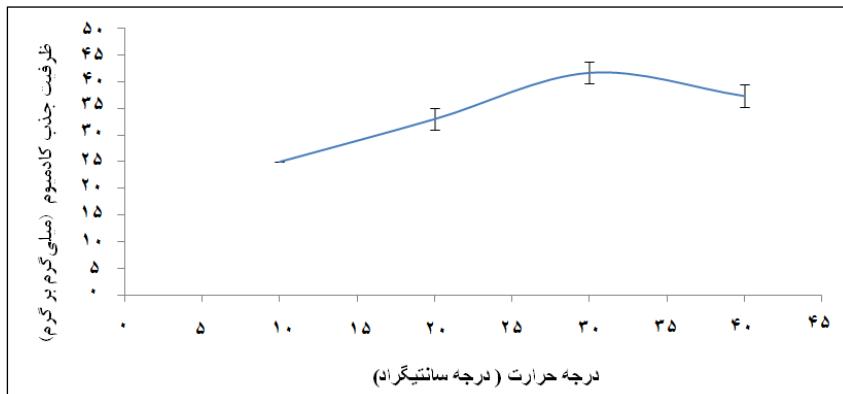
**Negative Reaction: A lack of a pink-red color

نتایج حاصل از تأثیر pH بر میزان جذب کادمیوم در شرایط ثابت (دما = ۳۰ درجه سانتی گراد، غلظت اولیه کادمیوم = ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر، مقدار جاذب = ۱ میلی گرم بر لیتر) نشان دادند که کمترین میزان جذب (۱۵/۷۵ میلی گرم بر گرم) در pH = ۴ جذب کادمیوم نیز افزایش یافت به طوری که در pH = ۸ بیشترین میزان جذب (۴۲ میلی گرم بر گرم) اتفاق افتاد و بعداز آن در pH = ۹ جذب این فلز توسط باکتری منتخب به ۳۵/۲۴ کاهش یافت (شکل ۱). لذا pH = ۸ به عنوان pH بهینه انتخاب گردید.



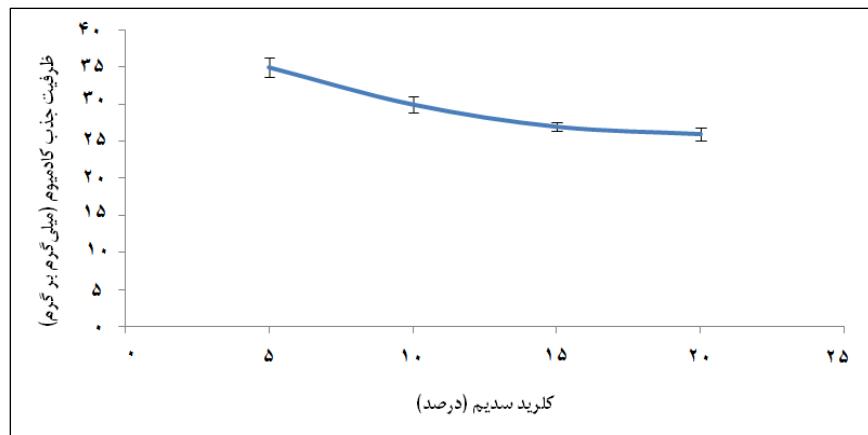
شکل ۱: تأثیر تغییرات pH بر ظرفیت جذب کادمیوم توسط باکتری هالوموناس (*Halomonas*) در تالاب میانکاله در مهر ۱۳۹۴.

در بررسی اثر دما بر میزان جذب کادمیوم در محدوده دمایی ۱۰ تا ۴۰ در شرایط ثابت ($pH=8$ ، شوری ۱۰ درصد، غلظت اولیه کادمیوم = ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، مقدار جاذب = ۱ میلی‌گرم بر لیتر) با افزایش دما از ۱۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد میزان جذب از $24/86$ به $41/66$ میلی‌گرم برگرم افزایش یافت و سپس در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد میزان جذب به $37/30$ میلی‌گرم برگرم کاهش یافت (شکل ۲)؛ بنابراین جذب بهینه در دمای ۳۰ سانتی‌گراد می‌باشد.



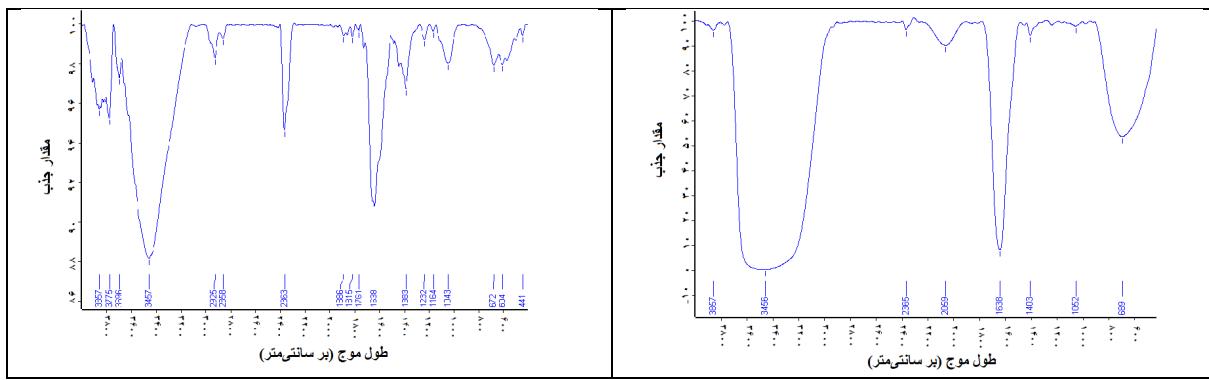
شکل ۲: تأثیر دما بر ظرفیت جذب کادمیوم توسط باکتری هالوموناس (*Halomonas*) در تالاب میانکاله در مهر ۱۳۹۴.

بررسی اثر شوری بر میزان جذب کادمیوم در غلظت‌های مختلف نمک با مقادیر ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد در شرایط ثابت ($pH=8$ ، دما $30^{\circ}C$ ، غلظت اولیه کادمیوم = ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، مقدار جاذب = ۱ میلی‌گرم بر لیتر) نشان داد که بیشترین میزان جذب (۳۵ میلی‌گرم برگرم) در نمک ۵ درصد مشاهده شد و بعداز آن روند کاهشی داشته است (شکل ۳).



شکل ۳: تأثیر شوری بر ظرفیت جذب کادمیوم توسط باکتری هالوموناس (*Halomonas*) در تالاب میانکاله در مهر ۱۳۹۴.

گروههای عاملی موجود در سطح سلول باکتری منتخب در حضور و عدم حضور فلز کادمیوم در محدوده فرکانس 4000 cm^{-1} تا 400 cm^{-1} توسط FT-IR شناسایی گردید (شکل ۴). تغییر شدت در پیک جذب در طول موج‌های 3857 ، 3857 ، 3775 و 3696 cm^{-1} وجود دارد. همچنین باندهای کششی بین طول موج‌های 2700 تا 2950 cm^{-1} نیز مشاهده گردید. باند کششی در نواحی 3457 و 3365 cm^{-1} و پیک جذبی در طول موج‌های 1638 ، 1761 و 1815 cm^{-1} مشاهده گردید. در طول موج‌های 1043 ، 1164 و 1232 cm^{-1} باندهای خمی وجود دارد (شکل ۴).



شکل ۴: طیف‌سنجدی FT-IR باکتری هالوموناس (الف) عدم حضور کادمیوم (ب) در حضور کادمیوم توسط باکتری هالوموناس (*Halomonas*) در تالاب میانکاله در مهر ۱۳۹۴.

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه بسیاری از محققان در صدد یافتن روش‌های ارزان قیمت و مناسب به منظور تصفیه پساب‌ها از فلزات سمی و سنگین از جمله کادمیوم می‌باشند تا جایگزین روش‌های پرهزینه و رایج معمولی گردد. به طور کلی باکتری‌ها دارای این توانایی می‌باشند، باکتری موردمطالعه در این تحقیق نیز از این فرایند مستثنی نمی‌باشد، عموماً باکتری‌های گرم منفی دارای پوشش سلولی ویژه‌تری در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت

می باشد به طوری که دارای غشای مضاعف خارجی بوده که دارای لیپوپلیساکارید (Lipopolsaccharides) است و این لایه دارای گروههای فعالی نظیر کربوکسیل، هیدروکسیل و آمین می باشد و این گروهها به دلیل بار منفی که دارند در جذب کاتیونهای فلزی از محیطهای آبی بسیار مؤثر می باشند (Mejare and Bulow, 2001; Chang *et al.*, 1997). مطالعات نشان دادند که فاکتورهایی از جمله pH، شوری و دما نقش مهمی در جذب زیستی فلزات ایفاء می کنند، اگرچه نوع فلز و نوع باکتری نیز در میزان جذب زیستی مؤثر هستند (Huang and Liu, 2013; Kulkarni *et al.*, 2014).

pH یکی از مؤثرترین فاکتورها در جذب فلزات بر سطح بیوجاذبها است (Huang and Liu, 2013). تحقیق حاضر نشان داد که pH به عنوان pH بهینه جذب فلز کادمیوم توسط این باکتری هالوموناس می باشد و با افزایش pH از ۴ به ۸، میزان جذب کادمیوم ۱۶٪ (%) افزایش یافت و در pH بالاتر از ۸ میزان جذب دوباره کاهش یافت. این نتایج بامطالعه ای که در سال ۲۰۱۴ بر روی جذب کادمیوم توسط باکتری هالوموناس صورت گرفت که pH بهینه برای فلز کادمیوم ۸ بیان شد مطابقت دارد (Rajesh *et al.*, 2014). در pH های اسیدی به دلیل افزایش غلظت H^+ محیط، رقابتی بین این پروتون و یون های Cd^{2+} برای جذب شدن بر روی جاذب وجود دارد و باعث کاهش میزان جذب می گردد. با افزایش pH بار منفی بیشتری در سطح باکتری شارژ می شود که سبب جذب کاتیونهای فلزی بیشتری می شود. دلیل دیگر افزایش جذب با افزایش pH این است که گونه هیدرولیز شده تعداد هیدروژن کمتری دارد، لذا انرژی کمتری جهت حذف یا جابجا یی مولکول های هیدارتہ آب برای اتصال به سطح باکتری صرف می شود (Hawari and Mulligan, 2006; Kulkarni *et al.*, 2014).

همچنین فلزات سنگین به دلیل حلالیت پایین در محیطهای قلایی به صورت هیدروکسید فلز رسوب می کنند و درنتیجه سبب کاهش جذب pH می شوند (Srivastava *et al.*, 2006; Limcharoensuk *et al.*, 2015; Kulkarni *et al.*, 2014).

بالای ۸ محلول فلز کادمیوم سبب تشکیل کمپلکس های هیدروکسید کادمیوم می شود که با جایگاههای فعال رقابت می کنند. دما فاکتور دیگری است که بر میزان جذب فلزات توسط بیوجاذبها مؤثر است (Barros *et al.*, 2007). در تحقیق حاضر با افزایش دما از ۱۰ به ۳۰ درجه سانتی گراد میزان جذب ۶۷ درصد افزایش پیدا کرد که این امر می تواند به دلیل حرکت و برخورد بیشتر و سریع تر مولکول ها باشد که در افزایش جذب نقش دارد اما با افزایش دما از ۳۰ تا ۴۰ درجه سانتی گراد میزان جذب کاهش پیدا می کند که می تواند در اثر تغییر شکل فضایی محل های جذب در ساختار باکتری در اثر حرارت باشد (Mameri *et al.*, 1999). نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر با نتایج به دست آمده توسط پژوهشگران مصری که بر روی جذب زیستی فلز کادمیوم توسط باکتری جداسازی شده از دریای سرخ انجام دادند و دمای ۳۰ درجه سانتی گراد را به عنوان بهینه جذب انتخاب کردند مطابقت دارد (Moselhy *et al.*, 2013). اغلب مطالعات گذشته دما بهینه برای جذب فلزات توسط باکتری ها را ۳۰ درجه سانتی گراد انتخاب کردند شاید به دلیل اینکه تولید و تکثیر باکتری در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد آسان تر است (Tabaraki *et al.*, 2013; Kulkarni *et al.*, 2014; Masoumi *et al.*, 2016).

در تحقیق حاضر با افزایش شوری از ۵ به ۲۰ درصد میزان جذب فلز کادمیوم توسط باکتری منتخب ۳۵ درصد افزایش یافت. در تطبیق با یافته های تحقیق حاضر، آموزگار و همکاران (۲۰۱۲) مشاهده کردند باکتری هالوموناس قادر به میزان جذب بالایی از فلز کادمیوم در نمک ۵ درصد است. کاهش جذب با افزایش شوری می تواند به دلیل رقابت یون های Na^+ با Cd^{2+} در جذب شدن به جایگاههایی در سطح دیواره سلولی باکتری باشد (Amoozegar *et al.*, 2012).

بررسی نتایج طیف سنجی مادون قرمز سویه منتخب در حضور کادمیوم و عدم حضور این فلز، شدت جذب متفاوتی از گروههای عاملی مشابه را نشان داد. گروههای عاملی آمیدی ($-NH$), هیدروکسیل ($-OH$), کربوکسیل ($C=O$) پلی ساکاریدها که روی لایه پیتیدو گلیکان وجود دارند Fereidouni *et al.*, 2009. یون های کادمیوم نشان دادند که اتصال قوی با لیگاند های سولفیدریل، کربونیل و فسفوریل در دیواره سلول باکتری ها دارند (Mishra *et al.*, 2010). همچنین یون های کادمیوم به دلیل شعاع اتمی نسبتاً بزرگ می تواند به راحتی با شبکه پلی ساکارید دیواره سلول باکتری متصل

گردد (Limcharoensuk *et al.*, 2015). تغییرات در پیک جذب تیز و ضعیف در طول موج های ۳۷۷۵، ۳۸۵۷ و ۳۶۹۶ cm^{-1} نشان دهنده برهمنکش فلز کادمیوم با گروههای آمیدی (NH-) است. باند پهنه در طول موج ۳۴۵۷ cm^{-1} به گروه هیدروکسیل (OH-) که باند کششی است اختصاص دارد. همچنین باندهای متغیر بین ۲۷۰۰ تا ۲۹۵۰ مربوط به باند کششی آلکان (C-H) است. پیک متوسط و قوی در طول موج ۱۶۳۸، ۱۷۶۱ و ۱۸۱۵ cm^{-1} مربوط به باند کششی گروه کربونیل (C=O) است که با توجه به تغییر شدت جذب مشاهده شده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این گروه در جذب زیستی فلز کادمیوم بسیار مؤثر بوده است. باند خمسی مشاهده شده در طول موج های ۱۰۴۳، ۱۱۶۴ و ۱۲۳۲ cm^{-1} مربوط به گروه (C-H) است که در جذب فلز کادمیوم توسط باکتری هالوموناس نقش چندانی ندارد (Zhou *et al.*, 2009). نتایج آنالیز FT-IR نشان داد که گروههای سطحی مؤثر این باکتری در جذب فلز کادمیوم شامل هیدروکسیل، آمید، کربونیل و آلکان بوده است.

با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق می‌توان نتیجه‌گیری کرد که باکتری هالوموناس گرم منفی بررسی شده در این تحقیق پتانسیل بالایی جهت جذب فلز کادمیوم از محیطهای آبی دارد. همچنین می‌توان از نتایج به دست آمده از آزمایش جذب بهینه، نتیجه‌گیری کرد که این باکتری نسبت به اسیدی شدن، دمای بالای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و شوری بالای ۵ درصد آب حساس است؛ بنابراین با افزایش گرمایش جهانی که یکی از چالش‌های مهم زیست‌محیطی امروزه بشمار می‌رود نه تنها می‌تواند جذب زیستی این باکتری‌ها را در محیط آبی به خطر اندازد بلکه تنوع زیستی و غنای گونه‌ای آن‌ها را در درازمدت ممکن است با خطر انقراض روبرو کند یا به حداقل کاهش دهد.

منابع

- احمدی اسب چین، س.، و جعفری، ن.، ۱۳۹۲. مقایسه جداسازی بیولوژیک فلز کادمیوم از پساب توسط باکتری باسیلوس و جلبک فوکوس سراتوس، فصلنامه علوم و تکنولوژی محیط‌زیست، جلد ۱۵: ۱۱۹-۱۲۶.
- بخشی، س.، صعودی، م.، غفوریان، ح.، و احمدی فقیه، م.ا.، ۲۰۰۷. جذب سزیم توسط باکتری‌های هالوفیل و هالوتولورانت و بررسی اثر فاکتورهای مختلف بر روی جذب، مجله پژوهش علوم پایه دانشگاه اصفهان، جلد ۲۸: ۱۵-۳۰.
- Amoozegar, M. A., Ghazanfari, N. and Didari, M., 2012.** Lead and cadmium bioremoval by *Halomonas* sp., an exopolysaccharide-producing halophilic bacterium. Progress in Biological Sciences 2(1): 1-11.
- Barros, A. J. M., Prasad, S., Leite, V. D. and Souza, A. G., 2007.** Biosorption of heavy metals in upflow sludge columns. Bioresource technology 98(7): 1418-1425.
- Bergey, D. H., Breed, R. S., Murray, E. G. D. and Hitchens, A. P., 1939** Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 5th ed. The Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- Chang, J.S., Law, R. and Chang, C. C., 1997.** Biosorption of Lead, Copper and Cadmium by biomass of *Pseudomonas aeruginosa* PU21. Water Research, 31: 1651– 1658.
- Hawari, A. H. and Mulligan, C.N., 2006.** Biosorption of lead(II), cadmium(II), copper(II) and nickel(II) by anaerobic granular biomass. Bioresource Technology 97:692–700.
- Huang, W. and Liu, Z. M., 2013.** Biosorption of Cd(II)/Pb(II) from aqueous solution by biosurfactant-producing bacteria: Isotherm kinetic characteristic and mechanism studies. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 105: 113– 119.
- Hussain, M. A., Salleh, A. and Milow, P., 2009.** Characterization of the adsorption of the Lead (II) by the nonliving biomass *Spirogyra neglecta* (Hasall) Kützing. American Journal of Biochemistry and Biotechnology 5(2): 75-83.
- Jayachandra, S. Y., Kumar, A., Merley, D. P. and Sulochana, M. B., 2012.** Isolation and characterization of extreme halophilic bacterium *Salinicoccus* sp. JAS4 producing extracellular hydrolytic enzymes. Recent Research in Science and Technology 4(4).
- Kulkarni, R.M., Shetty, K.V. and Srinikethan, G., 2014.** Cadmium (II) and nickel (II) biosorption by *Bacillus laterosporus* (MTCC 1628). Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers 45: 1628–1635.

- Limcharoensuk, T., Sooksawat, N., Sumarnrote, A., Awutpet, T., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P. and Auesukaree, C., 2015.** Bioaccumulation and biosorption of Cd⁺² and Zn⁺² by bacteria isolated from a zinc mine in Thailand. Ecotoxicology and Environmental Safety 122:322–330.
- Mameri, N., Boudries, N., Addour, L., Belhocine, D., Lounici, H., Grib, H. and Pauss, A., 1999.** Batch zinc biosorption by a bacterial nonliving *Streptomyces rimosus* biomass. Water Research 33(6): 1347-1354.
- Masoumi, F., Khadivinia, E., Alidoust, L., Mansourinejad, Z., Shahryari, S., Safaei and M., Akbari Noghabi, K., 2016.** Nickel and lead biosorption by *Curtobacterium* sp. FM01, an indigenous bacterium isolated from farmland soils of northeast Iran. Journal of Environmental Chemical Engineering 4(1): 950-957.
- Mejáre, M. and Bülow, L., 2001.** Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals. Trends in Biotechnology 19(2): 67-73.
- Mishra, B., Boyanov, M., Bunker, B. A., Kelly, S.D., Kemner, K.M. and Fein, J. B., 2010.** High- and low-affinity binding sites for Cd on the bacterial cell walls of *Bacillus subtilis* and *Shewanella oneidensis*. Geochimistry Cosmochimistry Acta(74): 4219–4233.
- Moselhy, K. M., Shaaban, M. T., Ibrahim, H. A. and Abdel-Monyg, A. S., 2013.** Biosorption of cadmium by the multiple-metal resistant marine bacterium *Alteromonas macleodii* ASC1 isolated from Hurghada harbour, Red Sea. Archives Des Sciences 66(2).
- Mulligan, C. N., Yong, R. N. and Gibbs, B. F., 2001.** An evaluation of technologies for the heavy metal remediation of dredged sediments. Journal Hazard Material 85: 145–163.
- Nomanbhay, S. M. and Palanisamy, K., 2005.** Removal of heavy metal from industrial wastewater using chitosan coated oil palm shell charcoal. Electronic Journal of Biotechnology (8): 43–53.
- Rajesh, V., Kumar, A. S. K. and Rajesh, N., 2014.** Biosorption of cadmium using a novel bacterium isolated from an electronic industry effluent. Chemical Engineering Journal 235: 176-185.
- Sánchez-Porro, C., Martín, S., Mellado, E. and Ventosa, A. 2003.** Diversity of moderately halophilic bacteria producing extracellular hydrolytic enzymes. Journal of Applied Microbiology 94(2): 295-300.
- Srivastava, V. C., Mall, I. D. and Mishra, I. M., 2009.** Competitive adsorption of cadmium (II) and nickel (II) metal ions from aqueous solution onto rice husk ash. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification 48(1): 370-379.
- Tabaraki, R., Ahmady-Asbchin, S. and Abdi, O., 2013.** Biosorption of Zn(II) from aqueous solutions by *Acinetobacter* sp. isolated from petroleum spilled soil. Journal of Environmental Chemical Engineering 1: 604–608.
- Volesky, B., 2001.** Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. Hydrometallurgy 59(2): 203-216.
- Wang, J. and Chen, C., 2006.** Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: a review. Biotechnology Advances 24(5): 427-451
- Wang, J. and Chen, C., 2009.** Biosorbents for heavy metals removal and their future. Biotechnology Advances 27(2): 195-226.
- Zhou, W., Wang, J., Shen, B., Hou, W. and Zhang, Y., 2009.** Biosorption of copper (II) and cadmium (II) by a novel exopolysaccharide secreted from deep-sea mesophilic bacterium. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 72(2): 295-302.

