

Research Article



Evaluating the ability of *Rhodococcus erythropolis* bacterial cells to remove lead from aquatic environments with a comparative approach between biosorption and bioaccumulation

Haniye Heidarian¹, Soroor Sadeghi^{2*}, Sara Sharifi³

1 Department of Chemical Engineering, Technical and Engineering Faculty, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

2 Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

3 Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

* Corresponding author email: soroorsadeghi@iauksh.ac.ir

© The Author(s) (2024)

Received: 07 Aug 2023

Accepted: 02 Nov 2023

Published: 09 Mar 2024

Extended Abstract

Introduction

The removal of heavy metals, such as lead (II), from aqueous environments is a critical environmental challenge due to their toxicity and persistence. This study investigates the comparative efficiency of biosorption and bioaccumulation using *Rhodococcus erythropolis* for lead (II) removal. Biosorption involves the use of non-living biomass to adsorb metals, while bioaccumulation utilizes living cells to uptake and store metals. The study aims to evaluate the effectiveness of these methods under varying conditions, including contact time, initial metal concentration, and biomass dosage, to optimize lead removal from contaminated water.

Materials and Method

The study employed *Rhodococcus erythropolis* in both living (bioaccumulation) and non-living (biosorption) states. The biomass was prepared by culturing the bacteria in a nutrient-rich medium, followed by inactivation using autoclaving or chemical treatment with potassium hexacyanoferrate (III). The surface morphology and functional groups of the biomass were analyzed using Scanning Electron Microscopy (SEM) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR). Batch experiments were conducted to assess the impact of contact time, initial lead concentration, and biomass dosage on removal efficiency. Lead concentrations were measured using UV-Vis spectrophotometry.

Results and Discussion

The results demonstrated that biosorption using non-living biomass achieved equilibrium within 15 minutes, with a maximum removal efficiency of 97.55% at an initial lead concentration of 20 mg/L and a biomass dosage of 0.1 g. In contrast, bioaccumulation using living cells required 60 minutes to reach equilibrium, with a maximum efficiency of 93.06% at a higher biomass dosage of 0.4 g. The biosorption process was significantly influenced by the initial metal concentration and biomass dosage, with higher concentrations leading to reduced efficiency due to saturation of active sites. FT-IR analysis revealed the presence of functional groups such as carboxyl, hydroxyl, and amine groups on the biomass surface, which facilitated metal binding. SEM images confirmed the structural integrity of the biomass before and after metal adsorption.

Conclusion

The study concludes that biosorption using non-living *Rhodococcus erythropolis* biomass is more efficient and practical for lead (II) removal compared to bioaccumulation. The rapid equilibrium time, higher removal efficiency, and ease of metal recovery make biosorption a superior method for industrial wastewater treatment. The findings highlight the potential of *Rhodococcus erythropolis* as a cost-effective and environmentally friendly biosorbent for heavy metal remediation. Future research should focus on scaling up the process and exploring its application in real-world industrial effluents.

Keywords: Aquatic environments, Bioaccumulation, Biosorption, Lead, *Rhodococcus erythropolis*

Extended Abstract



Evaluating the ability of *Rhodococcus erythropolis* bacterial cells to remove lead from aquatic environments with a comparative approach between biosorption and bioaccumulation

Haniye Heidarian¹, Soroor Sadeghi^{2*}, Sara Sharifi³

1 Department of Chemical Engineering, Technical and Engineering Faculty, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

2 Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

3 Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

* Corresponding author email: soroorsadeghi@iauuksh.ac.ir

© The Author(s) 2024

Received: 07 Aug 2023

Accepted: 02 Nov 2023

Published: 09 Mar 2024

Abstract

The comparative removal of lead (II) from water environments was investigated using *Rhodococcus erythropolis* in two modes of biosorption and bioaccumulation. The morphology of the biosorbent and its surface functional groups was investigated by SEM and FT-IR, respectively. Experiments were performed in discontinuous systems as a function of contact time, lead ion concentration, and biomass dose. Bioaccumulation by living bacterial cells and biosorption by inactive and non-living cells, were done. Biosorption was rapid, and equilibrium was reached in 15 min, while equilibrium in bioaccumulation was reached in 60 min. Initial metal concentration and amount of biomass significantly affected biosorption performance and contact time on bioaccumulation. The maximum biosorption efficiency using 0.1 g of inactive biomass after 15 minutes of contact time was 97.55%. Since metal recovery from inactive cell biomass is easier and can be performed with a higher absorption rate with a lower amount of biosorbent, the use of non-living biomass as a biological adsorbent is more efficient and significant.

Keywords: Aquatic environments, Bioaccumulation, Biosorption, Lead, *Rhodococcus erythropolis*



ارزیابی توانایی سلول‌های باکتریایی ردوکوکوس اریتروپولیس در حذف سرب از محیط- های آبی با رویکرد مقایسه‌ای فرایند جذب زیستی و تجمع زیستی

هانیه حیدریان^۱، سرور صادقی^{۲*}، سارا شریفی^۳

۱. گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی و مهندسی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران.

۲. گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران.

۳. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران.

ایمیل نویسنده مسئول: soroorsadeghi@iauksh.ac.ir

© The Author(s) 2024

چاپ: ۱۴۰۲/۱۲/۱۹

پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۱۱

دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۱۶

چکیده

حذف مقایسه‌ای سرب (II) از محیط‌های آبی با استفاده از *Rhodococcus erythropolis* در دو حالت مختلف جذب زیستی و تجمع زیستی مورد بررسی قرار گرفت. مورفولوژی جاذب زیستی و گروه‌های عاملی سطحی به ترتیب توسط SEM و FT-IR مورد بررسی قرار گرفتند. آزمایشات در سیستم ناپیوسته به عنوان تابعی از زمان تماس، غلظت یون‌های سرب و دوز زیست‌توده انجام شد. تجمع زیستی توسط سلول‌های زنده باکتری و جذب زیستی توسط سلول‌های غیرفعال و غیرزنده انجام شد. فرایند جذب زیستی سریع بود و تعادل در ۱۵ دقیقه به دست آمد درحالی‌که تعادل در تجمع زیستی در ۶۰ دقیقه به دست آمد. غلظت اولیه فلز و مقدار زیست‌توده به طور قابل توجهی بر عملکرد جذب زیستی و زمان تماس بر تجمع زیستی تأثیر زیادی گذاشت. حداکثر راندمان جذب زیستی با استفاده از ۰/۱ گرم زیست‌توده غیرفعال پس از ۱۵ دقیقه زمان تماس ۹۷/۵۵ درصد بود. با توجه به اینکه بازیابی فلز از توده سلول غیرفعال ساده‌تر و با سرعت جذب بالاتر است و میزان جاذب کمتری مورد نیاز است، لذا در مجموع استفاده از زیست‌توده غیرزنده به عنوان جاذب زیستی کارآمدتر و قابل توجه‌تر است.

کلمات کلیدی: جذب زیستی، تجمع زیستی، ردوکوکوس اریتروپولیس، سرب، محیط‌های آبی

۱- مقدمه

در چند دهه اخیر، تصفیه یون‌های فلزات سنگین از پساب‌های صنعتی به دلیل مدیریت آلودگی‌های زیست‌محیطی مورد توجه گسترده قرار گرفته است. آلودگی بوم‌سازگان‌های آبی ناشی از فلزات سنگین از اهمیت بوم‌شناختی بالایی برخوردار است. این نگرانی‌ها ناشی از تجزیه‌ناپذیری زیستی، سمیت بالا و تخلیه زیاد آن‌ها در محیط است. این فلزات از طریق تخلیه مستقیم به اکوسیستم‌های آب شیرین و دریایی یا از طریق مسیرهای غیرمستقیم صنعتی مرتبط با پساب‌های شیمیایی از صنایع مختلف به محیط‌های آبی وارد می‌شوند (Rezaei et al., 2022). یون‌های فلزات سنگین و سمی در محیط آبی در غلظت‌های پایین‌تر، به دلیل جذب سریع‌تر نگران‌کننده هستند (Al-Juboury 2009; Nasrabadi et al., 2010). روش‌هایی مانند ترسیب، تبخیر، آبکاری الکتریکی، تبادل یونی و فرآیندهای غشایی برای حذف فلزات سنگین از پساب توسعه یافته‌اند، اما دارای معایبی مانند استفاده از مواد غیر قابل بازیابی، هزینه بالا، مصرف معرف زیاد، تولید لجن سمی و غیره می‌باشند. جذب زیستی یک روش زیست‌شناختی برای استفاده از مواد بیولوژیکی جایگزین مقرون به صرفه برای این منظور است. استفاده از میکروارگانیسم‌هایی مانند باکتری‌ها، جلبک‌ها، مخمرها و قارچ‌ها به‌عنوان جاذب‌های زیستی برای حذف و بازیابی فلزات سنگین به دلیل نسبت سطح به حجم بالا، در دسترس بودن، سینتیک سریع جذب و دفع (absorption/desorption) و نیاز به هزینه‌های کم در مقایسه با سایر روش‌ها مورد توجه فزاینده‌ای قرار گرفته است (Mahmoud et al., 2023; Rezaei et al., 2022). جذب زیستی عبارت است از حذف مواد توسط زیست‌توده غیرفعال و غیرزنده به دلیل برهمکنش فیزیکوشیمیایی بین یون‌های فلزی و ترکیبات سلولی گونه‌های بیولوژیکی و شامل مکانیسم‌هایی مانند جذب، جذب سطحی، تبادل یونی، کمپلکس شدن سطح و رسوب دهی و گیر افتادن در فضای داخلی سلول می‌باشند (Lawrence et al., 2010; Mahmoud et al., 2023). مشخص شده است که گروه‌های عاملی مختلفی که روی دیواره‌های سلولی زنده وجود دارند، نیروهای جذب خاصی را برای یون‌های فلزی ارائه می‌کنند و میل ترکیبی بالایی برای حذف آن‌ها ایجاد می‌کنند. مزایای بالقوه فرآیند جذب زیستی عبارتند از استفاده از مواد زیستی طبیعی فراوان و تجدیدپذیر که می‌توان آن‌ها را ارزان تولید کرد، توانایی تصفیه حجم زیادی از فاضلاب به دلیل سینتیک سریع، انتخاب پذیری بالا از نظر حذف و بازیافت فلزات سنگین خاص، توانایی مدیریت چندین فلزات سنگین و ضایعات مخلوط، میل ترکیبی بالا، کاهش فلزات باقیمانده به کمتر از ppb در بسیاری از موارد، نیاز کمتر به معرف‌های گران قیمت اضافی همراه با مشکلات دفع پسماند و نیاز به فضای بالا، عملکرد در طیف وسیعی از شرایط فیزیکوشیمیایی از جمله دما، pH و وجود سایر یون‌ها، سرمایه‌گذاری نسبتاً کم و هزینه عملیاتی کم، بازیابی بسیار بهبود یافته فلزات سنگین متصل از زیست‌توده و کاهش بسیار حجم زباله‌های خطرناک تولیدی، از مزایای این فرآیند است.

ناهمگونی زیادی در بین گونه‌های مختلف باکتری وجود دارد که مربوط به تعداد محل‌های اتصال سطحی، قدرت اتصال برای یون‌های مختلف و مکانیسم‌های اتصال است. آن‌ها دارای لایه‌های پلی‌ساکارید هستند و به‌راحتی گروه آمینو، کربوکسیل، فسفات و سولفات را برای جذب بیولوژیکی فلزات فراهم می‌کنند (Kinoshita et al., 2013). سرب، جیوه و کادمیوم در صدر فهرست سمیت در میان یون‌های مختلف فلزات سنگین به دلیل تأثیر عمده آن‌ها بر محیط زیست هستند. سرب در بسیاری از پساب‌های صنعتی مانند آبکاری، تولید پلاستیک و رنگ، معدن، فرآیند متالورژی، فرآیند پتروشیمی، باتری‌سازی و کاغذسازی وجود دارد (Adelaja et al., 2011). سرب با گروه‌های Oxo در آنزیم‌ها کمپلکس‌هایی را تشکیل می‌دهد و عملاً بر تمام مراحل در فرآیند سنتز هموگلوبین و متابولیسم پورفیری تأثیر می‌گذارد. سرب با آنسفالوپاتی، تشنج و عقب‌ماندگی ذهنی مرتبط است و می‌تواند باعث آسیب به سیستم عصبی مرکزی شود. علائم سمی شامل کم‌خونی، بی‌خوابی، سردرد، سرگیجه، تحریک‌پذیری، ضعف عضلات، توهم و آسیب کلیوی می‌باشند (Fu & Wang, 2011). گونه‌های باکتریایی *Staphylococcus*, *Enterobacter cloacae*, *Geobacillus themodenitrificans*, *Micrococcus* و *Geobacillus themocatenulatus*, *Bacillus*, *Pseudomonas* راندمان پایین، مدت زمان تماس طولانی، محدوده کوچک غلظت اولیه فلز و مقدار زیاد دوز جاذب زیستی از معایب آن‌هاست

(Babak et al., 2013; Mahmoud et al., 2023; Rani et al., 2010; Rezaei et al., 2022). جذب فلز توسط سلول‌های زنده و غیرزنده متفاوت است، مکانیسم‌های حذف فلز توسط سلول‌های زنده در سراسر غشاء وابسته به متابولیسم سلولی است و به جذب درون سلولی، جذب فعال یا تجمع زیستی اشاره دارد، درحالی‌که جذب سطحی سلولی برهمکنش بین یون‌های فلزی و گروه‌های عاملی مانند کربوکسیلات، هیدروکسیل، سولفات است. گروه آمینو و فسفات روی سطح سلول مستقل از فعالیت متابولیک سلول است. جذب فلز با استفاده از سلول‌های زنده شامل دو مرحله است. ابتدا یون‌های فلزی با برهمکنش بین فلز و گروه‌های عاملی موجود در سطح دیواره به سطح سلول‌ها جذب می‌شوند و سپس یون‌های فلزی به غشای سلولی نفوذ کرده و وارد سلول می‌شوند. مرحله دوم وابسته به متابولیسم و مربوط به انتقال و رسوب فلز است. حذف فلز توسط سلول‌های غیرزنده سریع و در حالت غیرفعال است که مستقل از متابولیسم توسط مکانیسم‌های اتصال فلزی ترکیبی مانند کمپلکس‌سازی، جذب فیزیکی یا تبادل یونی و غیره انجام می‌شود.

مطالعات امکان‌سنجی برای کاربردهای در مقیاس بزرگ با استفاده از زیست‌توده غیرزنده در واقع بیشتر از فرآیندهای تجمع زیستی که از میکروارگانیسم‌های زنده استفاده می‌کنند، کاربرد دارند، زیرا این میکروارگانیسم‌ها به تامین مواد مغذی، سیستم بیوراکتور پیچیده و نگهداری از جمعیت میکروبی سالم نیاز دارند که به دلیل سمیت آلاینده‌های استخراج شده حاصل از فرایند و سایر عوامل محیطی نامناسب مانند دما و pH محلول دشوار است (Romera et al. 2006). بازیابی فلزات با ارزش نیز در سلول‌های زنده محدود است، زیرا ممکن است داخل سلول متصل شوند. بنابراین، در سال‌های اخیر، توجه محققان بیشتر بر استفاده از زیست‌توده سلول-های غیرزنده به عنوان جاذب زیستی متمرکز شده است (Dhanwal et al., 2018; Romera et al., 2006; Rezaei et al., 2022; Roşca et al., 2023). با این حال، بسیاری از ویژگی‌های میکروارگانیسم‌های زنده در کاربردهای صنعتی استفاده نشده باقی مانده‌اند که بایستی مورد توجه قرار گیرند. البته وجود مواد شیمیایی در طول رشد سلول و شرایط محیطی مانند pH و دما می‌تواند متابولیسم سلول را غیرفعال کرده و بر راندمان حذف تأثیر بگذارد. هدف از این مطالعه حذف سرب از محلول‌های آبی با استفاده از رودوکوکوس اریتروپولیس به عنوان یک جاذب زیستی بالقوه در دو حالت مختلف جذب زیستی و تجمع زیستی می‌باشد. برای مقایسه این روش‌ها، شرایط عملیاتی بهینه مورد مطالعه قرار گرفته است. همچنین ایزوترم‌های جذب زیستی و مطالعات سینتیکی مورد بررسی قرار گرفته است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد شیمیایی و شرایط میکروارگانیسم و کشت سلولی

نیتрат سرب (II)، هیدروکسید سدیم، کلرید هیدروژن و فسفات پتاسیم از Merck (آلمان) خریداری شد. سویه باکتری مورد استفاده در این تحقیق ردوکوکوس اریتروپولیس جداسازی شده از خاک آلوده به نفت خام بوده است و از PTCC (Persian Type Culture Collection) تهیه شد. سلول‌ها در تریپتون سویا برات با ترکیب زیر کشت داده شدند: پپتون از کازئین (۱۷ گرم)، پپتون از آرد سویا (۳ گرم)، D (+) گلوکز مونوهیدرات (۲/۵ گرم)، کلرید سدیم (۵ گرم)، دی پتاسیم هیدروژن فسفات (۲/۵ گرم) در ۱۰۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه حل شده و pH نهایی برابر با ۷ بود. محیط کشت با اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل شد. به سلول‌های باکتریایی اجازه رشد در محیط‌های سنتزی حاوی محلول فلزی سرب دو ظرفیتی داده شد تا بتوانند در برابر فلزات سنگین مقاوم شوند. غلظت محلول سرب ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بود (Fatahi & Sadeghi, 2017).

برای کشت سویه، فلاسک‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد با تکان دادن در ۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۹۶ ساعت (IKA KS-130 Basic) انکوبه شدند. در طول دوره کشت، مقداری از سلول‌ها برای اندازه‌گیری رشد

سلولی سلول‌های کشت شده با روش کدورت سنجی در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر UV-Visible (Spectro scan 60 DV) جمع آوری شدند. سلول‌های در حال استراحت با برداشت سلول‌ها در فاز لگاریتمی میانی سلول‌ها (OD: Optical Density) با سانتیفریوژ در ۴۰۰۰ گرم به مدت ۳۰ دقیقه (Froilabo SW14) و دو بار شستشو با بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار تهیه شدند. گروه‌های عاملی روی سطح سلول با طیف سنجی FTIR (تبدیل فوریه مادون قرمز) از ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ cm^{-1} مشخص شدند. طیف FTIR بر روی دستگاه Bruker- ALPHA تهیه شد. مطالعات مورفولوژیکی توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (MIRA TESCAN SEM) انجام شد.

۲-۲- آزمایش‌های جذب زیستی و تجمع زیستی

فرآیند تجمع زیستی توسط سلول‌های زنده R.erythropolis و فرآیندهای جذب زیستی توسط سلول‌های غیرفعال که در حضور پتاسیم‌هگزاسیانوفرات (III) غیرفعال شده بودند و سلول‌های غیرزنده که در دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شدند، انجام شد. آزمایش‌های جذب زیستی و تجمع زیستی در ارلن‌های حاوی ۵۰ میلی‌لیتر نمونه محلول فلزی و ۰/۱ گرم سلول‌های غیرزنده و غیرفعال (جذب زیستی) یا سلول‌های زنده (تجمع زیستی) انجام شد. برای اطمینان از تعادل، سلول‌ها و محلول فلزی در زمان‌های مختلف تماس تحت هم‌زدن ثابت، در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در تماس بودند. در تمام آزمایش‌ها، سلول‌ها تنها از یک کشت به دست آمدند و از همان فلاسک در همان مرحله رشد جمع‌آوری شدند. برای بررسی توانایی جذب بیولوژیکی سلول‌های مرده، سلول‌های باکتریایی به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند و برای بررسی قابلیت جذب بیولوژیکی سلول‌های غیرفعال، سلول‌های باکتریایی در تماس با ۵۰ میلی‌لیتر پتاسیم‌هگزاسیانوفرات (III) (0.5 M) قرار گرفتند. pH و دمای بهینه برای رشد میکروارگانیسم‌ها به ترتیب برابر با ۷ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. شرایط بهینه برای دو حالت مختلف حذف سرب با استفاده از مقادیر مختلف سلول‌های باکتریایی (۰/۵-۰/۱ گرم) که در یک فلاسک حاوی ۵۰ میلی‌لیتر یون سرب (از ۲۰ تا ۸۰ میلی‌گرم در لیتر) قرار داده شدند، انجام شد. تماس باکتری و محلول سرب در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در شیکر چرخشی با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ تا ۱۲۰ دقیقه انجام شد.

نمونه‌ها در فواصل زمانی مختلف گرفته شد، با استفاده از کاغذ صافی برای حذف زیست توده معلق فیلتر شده و محلول برای غلظت فلز باقیمانده آنالیز شد. غلظت فلزات با روش اندازه‌گیری جذب نوری UV-Vis توسط طیف سنج نوری (Varian USA) مدل Cary 100 Bio) در طول موج ۲۸۳/۳ نانومتر تعیین شد. منحنی استاندارد با استفاده از محلول‌های استاندارد سرب رسم شد. مقدار یون‌های فلزی جذب‌شده در هر گرم زیست توده با استفاده از رابطه زیر به دست آمد:

$$q = \frac{(C_0 - C_e)V}{M} \quad (1)$$

که q مقدار سرب جذب شده روی زیست توده (mg/g) است. Co غلظت اولیه یون سرب در محلول (mg/L) است. Ce غلظت یون فلزی تعادلی در محلول (mg/L) است. V حجم محیط (L) و M مقدار زیست توده استفاده شده در مخلوط واکنش به گرم است. آزمایش‌ها در سه تکرار متوالی انجام شدند.

۳. نتایج و بحث

چندین پارامتر وجود دارد که بر راندمان جذب و تجمع زیستی تأثیر می‌گذارد. پارامترهای اصلی که بر سرعت جذب زیستی یون‌های سرب تأثیر می‌گذارند، ویژگی‌های ساختاری و مورفولوژیکی جاذب زیستی مانند گروه عملکردی سطح و سطح ویژه، میزان جاذب زیستی، غلظت اولیه یون‌های سرب و زمان تماس است.

۳-۱- شناسایی ساختار و مورفولوژی سطح

مورفولوژی سطح سلول‌های مرده و غیرفعال *R. erythropolis* با میکروسکوپ الکترونی روبشی شناسایی شد (شکل ۱).

شکل ۱- (a) تصویر SEM از سلول‌های باکتریایی رودوکوکوس اریترپولیس فعال، (b) تصویر SEM از سلول‌های غیر فعال، (c) تصویر SEM از سلول‌های غیرزنده

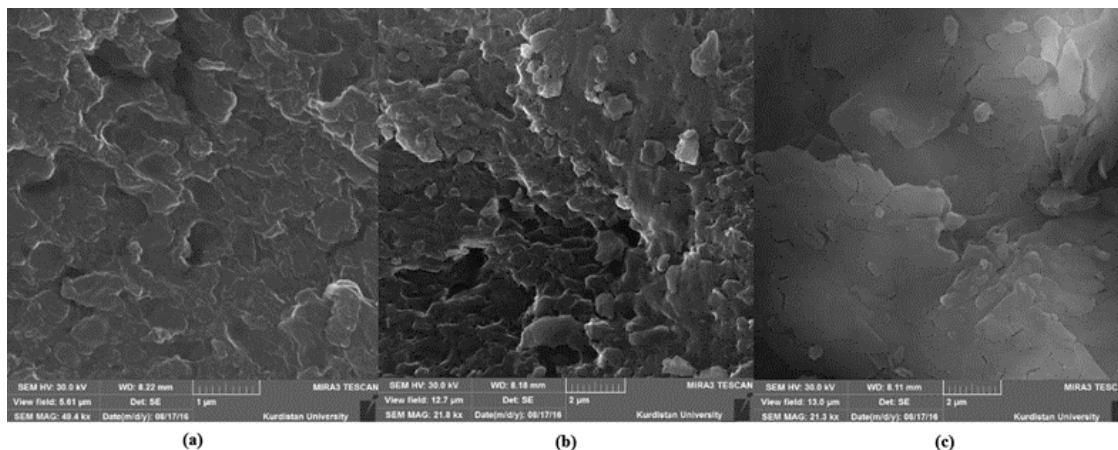


Fig 1. (a) SEM image of active bacterial cells of *Rodococcus erythropolis*, (b) SEM image of inactive cells, (c) SEM image of nonliving cell

گروه‌های عملکردی سطحی سلول‌های *R. erythropolis* با استفاده از طیف‌سنجی FTIR تعیین شدند (شکل ۲). با توجه به طیف FTIR سوبه باکتریایی فعال نوار در $3398/21 \text{ cm}^{-1}$ را می‌توان به حالت کشش OH و NH از آمید II نسبت داد، حالت خمشی برای NH در آمید II در $1553/79 \text{ cm}^{-1}$ ظاهر می‌شود، در $1643/88 \text{ cm}^{-1}$ نشان دهنده حالت کشش کربونیل در آمیدها از ساختار پروتئین و نوار در $1071/8 \text{ cm}^{-1}$ به حالت کشش کربونیل از پلی‌ساکاریدها نسبت داده می‌شود. نوار در $1405/16 \text{ cm}^{-1}$ را می‌توان به حالت کشش متقارن گروه‌های کربوکسیل نسبت داد. حالت خمشی گروه‌های کربوکسیل در $654/91 \text{ cm}^{-1}$ ظاهر می‌شود، نوار $1240/31 \text{ cm}^{-1}$ را می‌توان به گروه‌های C-O-C از پلی‌ساکاریدها نسبت داد. شکل ۲ قسمت b نشان‌دهنده طیف FTIR سوبه باکتریایی غیرفعال است که پس از رشد سلول در هگزاسیانوفرات پتاسیم تهیه شده است. نوار در $3297/21 \text{ cm}^{-1}$ را می‌توان به حالت کشش OH و NH از آمید II نسبت داد، حالت خمشی برای NH در آمید II در $1539/9 \text{ cm}^{-1}$ ظاهر می‌شود، نوارها در $2925/12 \text{ cm}^{-1}$ و $2855/82 \text{ cm}^{-1}$ را می‌توان به حالت کشش C-H نسبت داد. نوارهای $2115/79$ و $2048/28 \text{ cm}^{-1}$ را می‌توان به حالت کشش $C\equiv N$ از گروه نیتریل نسبت داد. نوار در $1656/11 \text{ cm}^{-1}$ نشان دهنده حالت کشش کربونیل در آمیدها از ساختار پروتئین و نوار $1456/47 \text{ cm}^{-1}$ به حالت کشش C-H از لیپیدها نسبت داده می‌شود. نوار در $1394/08 \text{ cm}^{-1}$ را می‌توان به حالت کشش متقارن گروه‌های کربوکسیل نسبت داد. حالت کششی متقارن و نامتقارن برای $P=O$ از گروه‌های فسفات به ترتیب در $1073/6 \text{ cm}^{-1}$ و $1237/62 \text{ cm}^{-1}$ ظاهر شد. نوار در $1166/69 \text{ cm}^{-1}$ را می‌توان به حالت کشش C-N از آمیدها نسبت داد.

۳-۲- شرایط بهینه جذب زیستی و تجمع زیستی

جدول (۱) کارایی جذب زیستی و تجمع زیستی یون‌های فلزات سنگین را در سلول‌های *R. erythropolis* نشان می‌دهد. راندمان جذب زیستی با افزایش غلظت اولیه یون فلز کاهش می‌یابد. بنابراین، یون‌های سرب بیشتری در محلول در سطوح غلظت بالاتر

جذب نشده باقی ماندند، اما مقدار جذب فلز (mg/g) با افزایش غلظت اولیه افزایش می‌یابد. نتایج بررسی اثر غلظت نشان می‌دهد که تجمع بیش از اندازه یون‌های سرب موجب پلاگ شدن مکان‌های فعال جهت جذب در اثر تراکم بیش از اندازه شده‌اند. این مساله نشان‌دهنده اهمیت عامل غلظت اولیه در تعیین شرایط بهینه جذب زیستی و تجمع زیستی سرب توسط سلول‌های باکتری در هر سه حالت فعال و غیرزنده و غیرفعال است.

شکل ۲- (a) طیف FTIR سلول‌های باکتریایی رودوکوکوس اریتروپولیس فعال، (b) طیف FTIR سلول‌های غیر فعال

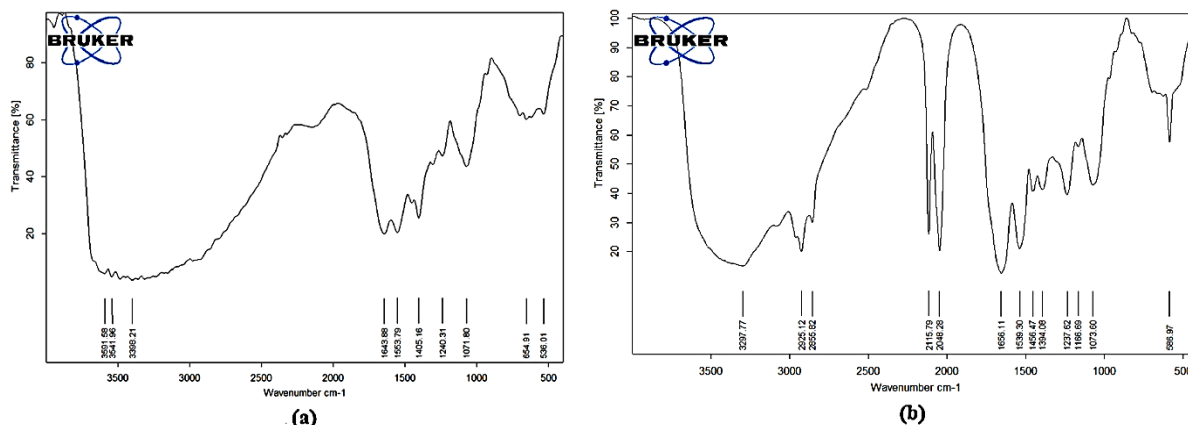


Fig 2. (a) FT-IR spectrum of active bacterial cells of *Rodococcus erythropolis*, (b) FT-IR spectrum of inactive cells

جدول ۱- اثر غلظت اولیه فلز بر تجمع زیستی و جذب زیستی سرب توسط *R. erythropolis*. زمان تماس ۶۰ دقیقه، مقدار زیست توده ۰/۱ گرم، دما ۳۵ درجه سانتیگراد، pH=7

Table 1. Effect of initial concentration on lead biosorption and bioaccumulation by *R.erythropolis*, contact time was 60 min, by 0.1 g of biomass, Temperature was 35°C and pH=7.

غلظت اولیه (mg/L)	تجمع زیستی با سلول‌های فعال (%) ± RSD	جذب زیستی با سلول‌های غیرزنده (%) ± RSD	جذب زیستی با سلول‌های غیرفعال (%) ± RSD
۲۰	۶۹/۹۷±۰/۶	۷۱/۹۰±۰/۰۹	۹۰/۱۹±۰/۰۹
۴۰	۵۶/۷۹±۰/۳	۶۷/۷۲±۰/۴۰	۸۱/۴۲±۰/۴۰
۶۰	۴۸/۵۴±۰/۲	۶۳/۸۳±۱/۵۰	۷۴/۱۶±۰/۹۴
۸۰	۴۱/۵۶±۱/۶	۶۰/۸۲±۰/۹۶	۶۵/۶۹±۰/۲۰

راندمان تجمع زیستی و جذب زیستی یون‌های فلزی به عنوان تابعی از زمان تماس ارزیابی شد. غلظت اولیه فلزات ۲۰ میلی‌گرم در لیتر بود. طبق جدول (۲)، جذب بیولوژیکی سرب توسط سلول‌های مرده و غیرفعال از ۱۵ دقیقه تا ۶۰ دقیقه هیچ تغییر قابل توجهی نداشت، اما تجمع زیستی یون‌های سرب روی سلول‌های زنده به تدریج با پیشرفت زمان افزایش یافت تا پس از ۶۰ دقیقه به تعادل برسد. این نتایج نشان‌دهنده عدم تاثیر بالای زمان تماس در عملکرد سلول‌های غیرفعال شده در اثر اتوکلاو و سلول‌های غیرفعال در حضور هگزاسیانوفرات پتاسیم در سیستم جذب زیستی سرب در مقایسه با تجمع زیستی آن است. واجذب یون‌های فلزی جذب شده در زمان‌های کوتاه پس از جذب آغاز شده است، چنانکه روند کاهشی در میزان جذب با گذر زمان مشاهده شده است. این در حالی است که در سیستم تجمع زیستی یون فلزی توسط توده سلولی فعال، با افزایش زمان راندمان جذب بالا رفته است. در مقایسه بین روش‌های جذب زیستی و تجمع زیستی مشخص می‌شود که فرایند تجمع زیستی فلز را بصورت پایدارتر جذب و از محیط

خارج می‌کند اما فرایند جذب زیستی فرایند ساده‌تری جهت احیای مجدد جاذب و بازیافت فلز است چرا که واجذب بصورت ساده و در زمان‌های کوتاهی پس از جذب اولیه اتفاق افتاده است که باعث روند کاهش راندمان شده است. بالاترین مقادیر جذب فلز برای سلول‌های زنده، سلول‌های غیرزنده در اثر اتوکلاو و سلول‌های غیرفعال شده در حضور پتاسیم‌هگزاسیانوفرات، به ترتیب 69.97 mg/g ، 82.01 mg/g و 97.55 mg/g به دست آمد، که برتری سیستم جذب زیستی به کمک سلول‌های غیرفعال در حضور ماده شیمیایی را مشخص می‌کند.

جدول ۲- اثر زمان تماس بر تجمع زیستی و جذب زیستی سرب توسط *R. erythropolis*؛ غلظت اولیه فلز 20 (mg/L) .

مقدار زیست توده برابر با 0.1 گرم؛ دما 35 درجه سانتیگراد، $\text{pH}=7$

Table 2. Effect of contact time on lead biosorption and bioaccumulation by *R. erythropolis*, initial concentration of metal was 20 (mg/L) , by 0.1 g of biomass, Temperature was 35°C and $\text{pH}=7$.

زمان تماس (min)	تجمع زیستی با سلول‌های فعال (%) \pm RSD	جذب زیستی با سلول‌های غیرزنده (%) \pm RSD	جذب زیستی با سلول‌های غیرفعال (%) \pm RSD
۱۵	30.11 ± 0.40	82.01 ± 0.40	97.55 ± 0.52
۳۰	47.55 ± 0.60	78.75 ± 1.30	94.35 ± 0.50
۴۵	57.74 ± 0.60	72.57 ± 1.40	90.96 ± 0.60
۶۰	69.97 ± 0.60	71.90 ± 0.09	90.19 ± 0.09

جدول ۳- اثر غلظت زیست توده بر تجمع زیستی و جذب زیستی سرب توسط *R. erythropolis*؛ غلظت اولیه فلز 20 (mg/L) ، زمان تماس

برای تجمع زیستی 60 دقیقه، زمان تماس برای جذب بیولوژیکی 15 دقیقه، دما 35 درجه سانتیگراد و $\text{pH}=7$

Table 3. Effect of adsorbent dosage on lead biosorption and bioaccumulation by *R. erythropolis*, initial concentration of metal was 20 (mg/L) , contact time for bioaccumulation 60 min , contact time for biosorption was 15 min , Temperature was 35°C and $\text{pH}=7$.

مقدار توده زیستی (g)	تجمع زیستی با سلول‌های فعال (%) \pm RSD	جذب زیستی با سلول‌های غیر زنده (%) \pm RSD	جذب زیستی با سلول‌های غیرفعال (%) \pm RSD
0.1	69.97 ± 0.60	82.01 ± 0.40	97.55 ± 0.52
0.2	74.32 ± 0.60	71.81 ± 1.38	88.64 ± 0.51
0.3	88.31 ± 0.60	66.71 ± 0.90	80.55 ± 0.09
0.4	93.06 ± 0.60	55.44 ± 0.90	79.53 ± 0.90

افزایش غلظت جاذب زیستی عموماً به دلیل سطح جذب بزرگتر، غلظت یون فلز جذب شده را افزایش می‌دهد. با این حال، افزایش بیشتر در غلظت زیست توده، جذب ویژه فلز را کاهش می‌دهد (Ekmekyapar et al., 2006). طبق جدول (۳)، افزایش دوز جاذب زیستی از 0.1 گرم به 0.4 گرم، جذب سرب را کاهش می‌دهد. طبق جدول (۳)، حداکثر راندمان جذب زیستی سلول‌های مرده و غیرفعال در 0.1 گرم جاذب زیستی پس از 15 دقیقه زمان تماس به دست آمد، اما حداکثر راندمان تجمع زیستی در 0.4 گرم از سلول‌های زنده پس از 60 دقیقه زمان تماس به دست آمد.

هرچند این نتایج نشان دهنده راندمان بالای جذب زیستی سرب توسط سلول‌های غیرفعال شده در حضور ماده شیمیایی است، اما افزایش میزان جاذب در خصوص فرایند جذب زیستی به دلیل تراکم سلول‌های غیرفعال شده در کنار هم و عدم دسترسی یون‌های

فلزی به مکان‌های فعال جذب بر روی سلول‌ها، موجب کاهش راندمان شده است. بنابراین تعیین دقیق دوز جاذب در سیستم‌های پساب حقیقی از اهمیت بالایی در فرایند جذب زیستی برخوردار است. در مقایسه این نتایج با روش تجمع زیستی فلز توسط توده فعال باکتری، مشخص می‌شود که افزایش دوز توده زیستی فعال تاثیر مستقیم در راندمان حذف فلز دارد هر چند افزایش چهار برابری میزان دوز توده سلولی در فرایند تجمع زیستی راندمانی نزدیک به دوز ۰/۱ گرمی در فرایند جذب زیستی سرب توسط باکتری غیرفعال شده در حضور ماده شیمیایی نشان داده است.

۴- نتیجه گیری

مطالعه حاضر به استفاده از سلول‌های *R. erythropolis* برای حذف سرب (II) از محلول‌های آبی پرداخت. این یک بررسی امکان-سنجی و مقایسه ای در مورد تجمع زیستی سرب توسط سلول‌های زنده *R. erythropolis* و جذب زیستی بر روی سلول‌های غیرزنده در اثر اتوکلاو در دمای بالا و سلول‌های غیرفعال شده در محیط شیمیایی به عنوان جاذب زیستی است. فرآیندهای جذب سریع بودند و تعادل در ۱۵ دقیقه به دست آمد، در فرآیند تجمع زیستی تعادل در ۶۰ دقیقه حاصل شد. حداکثر راندمان جذب زیستی ۹۷/۵۵ درصد با استفاده از ۰/۱ گرم زیست توده غیرفعال پس از ۱۵ دقیقه تماس بود. حداکثر راندمان تجمع زیستی ۹۳/۰۶ درصد با استفاده از ۰/۴ گرم زیست توده غیرفعال پس از ۶۰ دقیقه تماس بود. چندین پارامتر وجود دارد که بر راندمان جذب و تجمع زیستی تأثیر می‌گذارد. تجمع بیش از اندازه یون‌های سرب موجب پلاگ شدن مکان‌های فعال جهت جذب در اثر تراکم بیش از اندازه شده است. افزایش غلظت اولیه یون‌های سرب برای افزایش بازده جذب فلز، می‌تواند به دلیل افزایش برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک یا کووالانسی باشد که شامل مکان‌هایی با میل ترکیبی به تدریج برای یون‌های فلزی است. جذب بیولوژیکی فلز، که به جذب فیزیکی روی سطح سلول بستگی دارد، به طور کلی در طول دوره اولیه تماس بین جاذب زیستی و یون‌های سرب با سرعت بالایی انجام پذیر است. عدم تاثیر بالای زمان تماس در عملکرد سلول‌های غیرفعال در سیستم جذب زیستی در مقایسه با سیستم تجمع زیستی آن و واجذب یون‌های فلزی جذب شده در زمان‌های کوتاه پس از جذب موجب روند کاهش راندمان شده است اما این مساله مزیت سیستم غیرفعال را در بازیابی سریع، ارزان و ساده فلز و احیای کم هزینه جاذب جهت استفاده مجدد در فرایند را مشخص می‌کند. افزایش دوز جاذب زیستی باعث کاهش جذب سرب می‌شود. این مساله را می‌توان با تشکیل تجمع و تراکم توده سلول‌ها در طول جذب زیستی که در غلظت‌های بالای زیست توده انجام می‌شود و باعث سطح جذب موثر کمتر می‌شود، توضیح داد. عوامل متعددی از جمله pH، قدرت یونی، دما، غلظت یون فلزی در محلول و غلظت زیست-توده، کاهش ظرفیت جذب در افزایش زیست توده را توضیح می‌دهند. مجموعه نتایج حاضر برتری سیستم جذب زیستی به کمک سلول‌های غیرفعال را از نقطه نظر میزان بالای ظرفیت جذب، امکان احیای جاذب و بازیافت فلز و میزان جاذب کم تر مورد نیاز مشخص می‌کند. بر این اساس و با توجه به سادگی روش و فرآیند جذب زیستی و کارآمدی و راندمان بالای روش، استفاده از این جاذب زیستی برای کاربرد عملی در تصفیه پساب‌های صنعتی آلوده به فلز سرب بسیار مطلوب است.

۵- تضاد منافع نویسندگان

نویسندگان این مقاله اعلام می‌دارند که هیچ تضاد منافی در رابطه با نویسندگی و یا انتشار این مقاله ندارند.

۶- منابع

Al-Juboury, A. I. (2009). Natural Pollution By Some Heavy Metals in the Tigris River, Northern Iraq. *International Journal of Environmental Research*, 3, 189-98. <https://doi.org/10.22059/IJER.2009.47>

- Babak, L., Šupinova, P., Zichova, M., Burdychova, R., & Vitova, E. (2012). Biosorption of Cu, Zn and Pb by thermophilic bacteria—effect of biomass concentration on biosorption capacity. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 60, 9-18. <https://doi.org/10.11118/actaun201260050009>
- Dhanwal, P., Kumar, A., Dudeja, S., Badgujar, H., Chauhan, R., Kumar, A., Dhull, P., Chhokar, V., Beniwal, V. (2018) Biosorption of Heavy Metals from Aqueous Solution by Bacteria Isolated from Contaminated Soil. *Water Environment Research*, 90(5), 424-430. <https://doi.org/10.2175/106143017X15131012152979>
- Ekmekyapar, F., Aslan, A. & Bayhan, Y.K. (2006). Biosorption of copper (II) by nonliving lichen biomass of *Cladonia rangiformis* hoffm. *Journal of Hazardous Materials*, B137, 293-98. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.02.003>
- Fatahi, A., & Sadeghi, S. (2017). Biodesulphurization of gasoline by *Rhodococcus erythropolis* supported on polyvinyl alcohol. *Letters in Applied Microbiology*, 64, 370-78. <https://doi.org/10.1111/lam.12729>
- Fu, F., & Wang, Q. (2011). Removal of heavy metal ions from wastewaters: a review. *Journal of Environmental Management*, 92, 407-18. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.11.011>
- Kinoshita, H., Sohma, Y., Ohtake, F., Ishida, M., Kawai, Y., Kitazawa, H., Saito, T., & Kimura, K. (2013). Biosorption of heavy metals by lactic acid bacteria and identification of mercury binding protein. *Research in Microbiology*, 164, 701-9. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2013.04.004>
- Lawrence, K., Wang, J.T., Stephen, T.T, & Yung-Tse, H. (2010). Handbook of environmental engineering, environmental bioengineering, Springer, New York Dordrecht Heidelberg London.
- Mahmoud, S.A., Orabi, A.S., Mohamedein, L.I. et al. (2023). Eco-friendly shellfish powder of the mussel *Brachidontes variabilis* for uptake lead (II) ions. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14, 17201-17218. <https://doi.org/10.1007/s13399-023-03950-2>
- Nasrabadi, T., Nabi Bidhendi, G. R., Karbassi A. R. & Mehrdadi N. (2010). Evaluating the efficiency of sediment metal pollution indices in interpreting the pollution of Haraz River sediments, southern Caspian Sea basin. *Environmental Monitoring and Assessment*, 171, 395-410. <https://doi.org/10.1007/s10661-009-1286-x>
- Rani, M.J., Hemambika, B., Hemapriya, J. & Rajesh Kannan, V. (2010). Comparative assessment of heavy metal removal by immobilized and dead bacterial cells: A biosorption approach. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 4, 77-83.
- Rezaei, M., Pourang, N. & Moradi, A.M. (2022). Removal of lead from aqueous solutions using three biosorbents of aquatic origin with the emphasis on the affective factors. *scientific reports*, 12, 751. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04744-0>
- Romera, E., Gonzalez, F., Ballester, A., Blazquez, M.L. & Munoz, J.A. (2006). Biosorption with algae: a statistical review, *Critical Reviews in Biotechnology*, 26, 223-35. <https://doi.org/10.1080/07388550600972153>
- Roşca, M., Silva, B., Tavares, T., & Gavrilăscu, M. (2023). Biosorption of Hexavalent Chromium by *Bacillus megaterium* and *Rhodotorula* sp. Inactivated Biomass. *Processes*, 11(1):179. <https://doi.org/10.3390/pr11010179>