

بررسی سینتیک جذب فلز کادمیوم توسط باکتری (هالوموناس) جداسازی شده از تالاب میانکاله

چکیده

هدف این تحقیق بررسی سینتیک جذب و ایزوترم تعادلی فلز کادمیوم توسط باکتری بومی نمک دوست جداسازی شده از اکوسیستم حساس تالاب میانکاله است. ابتدا جهت شناسایی گونه‌های مقاوم به شوری، ۴ سویه باکتری گرم منفی که از آب تالاب میانکاله در مهر ۱۳۹۴ نمونه برداری، خالص‌سازی، جداسازی و شناسایی شده بودند در محیط‌های کشت نمک‌دوست متوسط (MH) حاوی کلرید سدیم ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد کشت داده شدند. باکتری‌هایی که بدون حضور نمک قادر به رشد نبودند به عنوان باکتری‌های نمک‌دوست انتخاب شدند. سپس رشد باکتری‌های نمک دوست در غلظت‌های ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۴۰ و ۶۰ میلی گرم بر لیتر از فلز کادمیوم مورد بررسی قرار گرفتند و یک باکتری که قادر به رشد در بالاترین غلظت از کادمیوم بود به عنوان باکتری مقاوم به این فلز انتخاب شد. ظرفیت جذب کادمیوم توسط باکتری منتخب نمک‌دوست (هالوموناس) در محدوده ۲۵ تا ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر را در شرایط ثابت (pH=8، دما ۳۰ درجه سانتی‌گراد، شوری ۱۰ درصد، مقدار جاذب = ۱ میلی گرم بر لیتر) انجام شد و بهینه غلظت اولیه فلز کادمیوم برای باکتری هالوموناس ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر انتخاب گردید. بررسی سینتیک جذب نشان داد که در ۵ دقیقه اول، ۹۱/۱۲ میلی گرم بر گرم از فلز کادمیوم (۶۰ درصد) جذب گردید که در این مرحله نیاز به صرف انرژی نداشت و طی ۴۰ دقیقه به بیشترین مقدار خود یعنی ۱۰۳/۹ میلی گرم بر گرم (۷۰ درصد) رسید و بعد از آن ثابت باقی ماند ($P \leq 0.05$)، بنابراین زمان اولیه جذب فلز کادمیوم توسط باکتری جنس هالوموناس بسیار سریع بود. همچنین نتایج نشان دادند که حداکثر جذب از مدل سینتیک جذب شبه مرتبه دوم و از مدل ایزوترم لانگمویر پیروی کرده است. لذا می‌توان نتیجه‌گیری کرد که از باکتری جنس هالوموناس بعنوان یک باکتری ارزان و فراوان در دریاها برای حذف فلز کادمیوم از اکوسیستم‌های آب شور استفاده کرد.

واژگان کلیدی: جذب‌زیستی، فلز کادمیوم، ایزوترم تعادلی، باکتری‌های هالوفیل، تالاب میانکاله..

شیوا شعبان نژاد^۱

فاطمه کاردل^{۲*}

سلمان احمدی اسب‌چین^۳

شیلا امیدظهير^۴

۱ و ۴. گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم

دریایی، دانشگاه مازندران، مازندران، ایران

۲. گروه علوم محیط‌زیست، دانشکده علوم پایه،

دانشگاه مازندران، مازندران، ایران

۳. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه،

دانشگاه مازندران، مازندران، ایران

*مسئول مکاتبات:

f.kardel@umz.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۱

کد مقاله: ۱۳۹۴۰۴۰۵۷۵

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه

کارشناسی ارشد است.

مقدمه

با پیشرفت تمدن بشری، توسعه فناوری و ازدیاد روزافزون جمعیت، در حال حاضر اغلب کشورهای جهان با مشکلی به نام آلودگی بخصوص در محیط‌های آبی روبرو هستند که سلامت اکوسیستم‌ها و بخصوص انسان‌ها را تهدید می‌کند. یکی از این اکوسیستم‌های حساس به تجمع آلودگی تالاب‌ها هستند. یکی از این تالاب‌ها، تالاب بین‌المللی میانکاله است که در سال ۱۳۵۴ در کنوانسیون رامسر ثبت شده است. اگرچه عوامل متعددی حیات این تالاب را تهدید می‌کند، اما رهاسازی فاضلاب‌های خانگی، کشاورزی و صنعتی نواحی اطراف که بدون تصفیه شدن وارد این تالاب می‌شوند را می‌توان از مهم‌ترین عوامل تهدیدکننده سلامت این تالاب ذکر کرد (وزین و همکاران، ۱۳۹۴; Tabari et al., 2010). فلزات سنگین به دلیل سمیت بالا و پایداری آن در محیط زیست از مهمترین آلاینده‌های فاضلاب‌ها به‌شمار می‌روند که می‌توانند اثرات نامطلوبی بر روی رشد و سلامت موجودات آبی و در نهایت سلامت انسان‌ها بگذارند. موجودات زنده دریایی فلزات را در غلظت‌هایی چندبرابر میزان

موجود، در آب انباشت کرده و سبب بزرگنمایی زیستی در موجودات می‌گردند (Jager et al., 1996). لذا آلوده شدن موجودات دریایی موجب انتقال بیماری‌ها و یا فلزات سمی به انسان‌ها نیز می‌گردند. فلز کادمیوم یکی از فلزات سنگینی است که تحقیقات نشان دادند میزان این فلز در تالاب میانکاله و آذربایان ساکن آن بالاست (مهدی نژاد و همکاران، ۱۳۹۶). به‌عنوان مثال در مطالعه‌ای که سینکا کریمی و همکاران (۱۳۹۵) به منظور بررسی میزان فلز سنگین کادمیوم در آب و بافت‌های کبد، کلیه و عضله اردک سرسبز و اردک سرخایی تالاب میانکاله انجام دادند، نتایج نشان دهنده بالابودن غلظت کادمیوم در آب بیشتر از حدمجاز و تجمع آن در بافت پرندگان در کلیه بیشتر از کبد و عضله بود. در مطالعه‌ای دیگر مهدی‌نژاد و همکاران (۱۳۹۶) به بررسی میزان فلز سنگین کادمیوم از رسوبات سطحی تالاب میانکاله پرداختند که بیشترین میزان این عنصر در رسوبات سطحی، مربوط به ایستگاه‌های قره سو و بندرگز و کمترین میانگین مربوط به ایستگاه‌های گلوگاه و شاکله بود، که این افزایش به علت تمرکز بیشتر فعالیت‌های انسانی در اطراف این ایستگاه‌ها بوده است. فلز کادمیوم فلز سنگینی است که در صنایع مختلفی از جمله تولید باتری، آبکاری (به عنوان لایه محافظ روی فلزات و پلاستیک) و صنایع پلاستیک‌سازی (به‌عنوان رنگدانه و تثبیت کننده)، لچیم‌کاری، تولید رنگ و تولید برخی آلیاژها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Clark, 1992).

روش‌های متعدد فیزیکی، شیمیایی و زیستی برای جذب این فلزات پیشنهاد گردیده است که هر کدام دارای مزایا و معایب خاصی می‌باشند (Regine et al., 2000). در سال‌های اخیر استفاده موفقیت‌آمیز از میکروارگانیسم‌ها به عنوان جاذب زیستی مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است. در بین میکروارگانیسم‌های مختلف باکتری‌ها به دلیل مقرون به صرفه بودن، دستیابی آسان، سازگاری بالا در محیط آبی (یا بومی بودن)، قابلیت پیوند بالا با یون‌ها، پیوند انتخابی با فلزات، بازیافت فلز و امکان استفاده مجدد از بیومس آن‌ها از محبوبیت بالایی برخوردارند (Hawari and Maligan, 2006). جذب زیستی در باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی به دلیل تفاوت در ساختار غشاء و دیواره سلولی با هم متفاوت است. دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی ضخامت کمتری نسبت به باکتری‌های گرم مثبت دارد، در نتیجه در باکتری‌ها گرم منفی جایگاه‌های اتصال محکمی وجود ندارد. ساختار غشای بیرونی باکتری گرم منفی متشکل از لیپوپلی‌ساکارید، فسفولیپید و پروتئین است (Ginnand Fein, 2008). درحالی که دیواره باکتری‌های گرم مثبت با داشتن گلیکوپروتئین بیشتر در سطح خارجی خود نسبت به باکتری‌های گرم منفی پتانسل بیشتری برای جذب فلزات سنگین دارد (Romera et al., 2006; Ahmady-Asbchin and Bahrami, 2011). از طرفی باکتری‌های نسبتاً نمک‌دوست پتانسیل بالایی در بیوتکنولوژی و نانوتکنولوژی دارند و بسیاری از آنها نه تنها ترکیبات صنعتی نظیر آنزیم‌ها، پلیمرها، پیگمان‌ها و غیره را تولید می‌کنند بلکه دارای خصوصیات فیزیولوژیک خاص هستند که بهره‌وری از آن‌ها را تسهیل می‌کند (Margesin and Schinner, 2001). حذف کادمیوم و سرب توسط باکتری هالوفیل جدا شده از دریای مرده شور اردن صورت گرفت مقایسه‌ای بین ۱۰ سویه از باکتری بوده است که بیشترین تجمع زیستی فلزات در پروتوپلاست باکتری شناسایی شد (Massadeh et al., 2005). از این رو مطالعات زیادی به بررسی سینتیک و ایزوترم تعادلی جذب زیستی فلزات بوسیله باکتری‌ها پرداختند. در بررسی انجام شده در سال ۲۰۱۲ توسط Amoozegar و همکاران در خصوص جذب زیستی کادمیوم و سرب توسط باکتری هالوموناس نشان داد که این باکتری قادر به حذف میزان ۷۸/۴ درصد از کادمیوم در دقایق اول با سرعت بالا است. همچنین در پژوهشی دیگر میزان جذب سزیم در تعدادی باکتری نمک‌دوست و مقاوم به شوری جدا شده از منطقه شور باتلاق گاوخونی بررسی شد که در دقیقه اول میزان سرعت جذب ۹۰/۳۷ یا ۸۹/۴ درصد بوده و طی ۱۵ دقیقه به بیشترین مقدار خود یعنی ۱۰۱/۰۳ میلی گرم بر گرم رسید (بخشی و همکاران، ۱۳۸۶). Liu و Huang (2013) با استفاده از باکتری‌های تولیدکننده بیوسورفاکتانت به بررسی جذب فلز سرب و کادمیوم از محیط‌های آبی پرداختند و بیان کردند این باکتری‌ها جاذب مناسبی جهت تصفیه آب‌های آلوده به فلزات سنگین می‌باشد. حذف و یا کاهش فلزات سنگین و تبدیل آن به فرم غیر متحرک از

تالاب‌ها یا اکوسیستم‌های آبی با استفاده از فعالیت باکتری‌ها توسط دیگر مطالعات نیز گزارش شده است (Sobolewski *et al.*, 1999; Sheoran and Sheoran, 2006).

تعیین مکانیزم فرایندهای جذب سطحی فلزات توسط بیوجاذب‌ها مانند جذب در سطح، واکنش شیمیایی و یا مکانیزم‌های نفوذ با استفاده از مدل‌های ریاضی صورت می‌گیرد (Masoumi *et al.*, 2016). مدل‌های ایزوترم لانگمویر و فروندلیچ، جذب فلزات را مربوط به بیومس بیوجاذب نسبت به غلظت تعادلی محلول می‌داند. بطور معمول حداکثر جذب فلزات توسط باکتری با استفاده از مدل‌های ایزوترم لانگمویر و فروندلیچ در مقادیر مختلف غلظت اولیه فلز قابل بررسی می‌باشد (Kulkarni *et al.*, 2014).

با توجه به اینکه میکروارگانیسم‌ها جزء تجزیه‌کنندگان اولیه در اکوسیستم‌های آبی بشمار می‌آیند و دارای ویژگی‌هایی مانند رشد سریع، نیاز غذایی کم و عدم ایجاد آلودگی می‌باشند، لذا می‌توانند نقش مهمی را در حذف، کاهش و تجزیه آلاینده‌ها در اکوسیستم‌های حساس به ویژه تالاب‌ها ایفا کنند و بدین ترتیب سبب کاهش یا حذف انتقال فلزات به سطوح بالای زنجیره غذایی شوند. از آنجایی‌که هیچ پژوهشی بر روی جذب فلز کادمیوم توسط باکتری‌های تالاب بین‌المللی میانکاله در دسترس نمی‌باشد. لذا این تحقیق به بررسی سینتیک و ایزوترم جذب فلز کادمیوم توسط باکتری هالوموناس جداسازی شده از تالاب میانکاله به منظور شناسایی مکانیسم جذب‌زیستی این فلز توسط یک نوع باکتری نمک‌دوست بومی این تالاب پرداخته است.

مواد و روش‌ها

تالاب میانکاله بین طول‌های جغرافیایی ۵۲ درجه و ۲۴ دقیقه و ۰۸ ثانیه تا ۵۴ درجه و ۰۲ دقیقه و ۰۲ ثانیه شرقی و عرض‌های جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۶ دقیقه و ۳۶ ثانیه تا ۳۶ درجه و ۵۷ دقیقه و ۲۶ ثانیه شمالی واقع شده است. نمونه‌های آب در مهر ماه سال ۱۳۹۴ با استفاده از ظروف استریل در عمق ۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متری از سطح آب از ۵ ایستگاه به فاصله یک کیلومتری از هم از تالاب میانکاله جمع‌آوری و به آزمایشگاه انتقال داده شدند.

در این تحقیق جهت جداسازی باکتری‌های نمک‌دوست از محیط کشت MH (Moderate Halophilic) استفاده شد. برای تهیه یک لیتر محیط کشت MH، از ۱۰ گرم کلرید سدیم (NaCl)، ۷ گرم کلرید منیزیم ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$)، ۹/۶ گرم سولفات منیزیم ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)، ۰/۳۶ گرم کلرید کلسیم ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$)، ۲ گرم کلرید پتاسیم (KCl)، ۰/۰۶ گرم بیکربنات سدیم ($NaHCO_3$)، ۰/۰۲۶ گرم برمید سدیم (NaBr)، ۱۰ گرم پودر عصاره مخمر (Yeast extract)، ۵ گرم پپتون (Pepton)، ۱ گرم گلوکز (Glucose)، ۱۵ گرم آگار (Agar) (ساخت شرکت مرک آلمان) استفاده شدند (Moreno *et al.*, 2007). برای تهیه این محیط کشت، تمامی مواد توسط ترازو وزن شدند و در یک ارلن ریخته شدند، سپس توسط آب مقطر به حجم رسانیده شد و pH محلول اندازه‌گیری گردید. در این مرحله آگار به آن افزوده گردید و سپس توسط اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس استریل شد و در پلیت‌ها توزیع شد و باکتری‌ها بر روی آن کشت داده شدند (Garabito *et al.*, 1997). جهت خالص‌سازی، باکتری‌های جداسازی شده از تالاب میانکاله با روش خطی توسط لوپ استریل کشت داده شدند و کلنی‌های مختلف با استفاده از ریخت‌شناسی جداسازی شدند. باکتری‌های جداسازی شده با استفاده از رنگ آمیزی گرم (محلول‌های کریستال ویوله، لوگول، الکل استون و سافرانین) نمونه‌هایی که در زیر میکروسکوپ به رنگ قرمز مشاهده شده بودند به‌عنوان باکتری گرم منفی انتخاب شدند (محسنی، ۱۳۸۹) و همچنین تست‌های بیوشیمیایی (تولید H_2S ، حرکت، تولید اندول، TSI، متیل رد، وژز-پروسکوئر، آزمایش سیترات سیمون و ژلاتیناز) نیز انجام شد (Jayachandra *et al.*, 2012). برای شناسایی باکتری‌های نمک‌دوست ابتدا ۴ باکتری گرم منفی جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی شده در محیط کشت‌هایی با تراکم نمک ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرمادهی و کشت داده شدند. سپس

بعد از مدت زمان ۲۴ ساعت تعداد باکتری‌هایی که بدون حضور نمک (NaCl) قادر به رشد نبودند جداسازی و به عنوان باکتری‌های نمک‌دوست شناسایی شدند (Mac Faddin, 2000).

برای جداسازی و شناسایی گونه باکتری مقاوم به فلز کادمیوم، رشد باکتری‌های هالوفیل جداسازی شده در حضور غلظت ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۴۰ و ۶۰ میلی گرم بر لیتر از فلز کادمیوم بررسی شد و باکتری که قادر به رشد در بالاترین غلظت از کادمیوم بود به عنوان باکتری مقاوم انتخاب شد. در این مطالعه برای ساخت محلول فلزی کادمیوم، از نیترات کادمیوم ($\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (ساخت شرکت مرک آلمان) استفاده شد. ابتدا سویه مورد نظر را در محیط کشت MH بدون آگار (مایع) با کلریدسدیم ۱۰ درصد و $\text{pH}=8$ (نزدیک به اسیدیته محیط نمونه‌برداری) تلقیح نموده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکر با سرعت ۱۸۰ دور در دقیقه در دمای ۳۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. سپس بیومس باکتری با سانتریفیوژ کردن محیط کشت در سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه بدست آمد. بیومس بدست آمده با آب دوبار تقطیر سه بار شستشو شدند (Masoumi et al., 2016).

ابتدا ۱۲ ارلن ۱۰۰ سی‌سی با غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰، ۱۷۵، ۲۰۰، ۲۲۵، ۲۵۰، ۲۷۵ و ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر فلز کادمیوم آماده‌سازی شدند. لازم به ذکر است که همه محلول‌ها در $\text{pH}=8$ و شوری ۱۰ درصد تنظیم گردیدند. سپس از هر یک از محلول‌های تهیه شده نمونه‌ای تحت عنوان شاهد برداشته و بعد از آن بیومس باکتری به نسبت ۱ گرم بر لیتر به ارلن‌های حاوی غلظت‌های متفاوت افزوده گردید و به مدت یکساعت در انکوباتور شیکردار با ۱۷۰ دور بر دقیقه در دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرمادهی شدند. در نهایت از هر کدام از ارلن‌ها ۱۰ سی‌سی نمونه مایع (حاوی فلز و باکتری) توسط سرنگ برداشته و از فیلتر گذرانده شد تا محلولی صاف و بدون باکتری بدست آمد. محلول بدست آمده با استفاده از آب دوبار تقطیر به حجم رسانده شدند و سپس میزان فلز کادمیوم موجود در آن محلول با استفاده از دستگاه جذب اتمی شعله (مدل AA240FS ساخت شرکت Varian آمریکا) با سه تکرار مورد سنجش قرار گرفت (Shirdam et al., 2006).

برای انجام آزمایش سینتیک، ابتدا یک لیتر آب دیونیزه و ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر از فلز کادمیوم را بصورت محلول آماده ساخته و در ابتدای کار در زمان صفر به اندازه ۵ سی‌سی نمونه محلول آماده شده بعنوان شاهد برداشته شد. سپس یک گرم از بیومس باکتری به محلول فلزی آماده شده اضافه گردید و در انکوباتور شیکردار با ۱۵۰ دور بر دقیقه و دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرماگذاری شد و در زمان‌های ۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه ۱۰ سی‌سی از نمونه به وسیله سرنگ، از سوسپانسون برداشته شد و توسط فیلترهای سرسنگی با اندازه منافذ ۰/۴۵ میکرومتر فیلتر شدند و محلول فیلتر شده به درون فالكون انتقال داده شد تا میزان کادمیوم باقیمانده توسط دستگاه جذب اتمی (مدل AA240FS ساخت شرکت Varian آمریکا) و با سه تکرار مورد سنجش قرار گرفت. سپس جذب در زمان‌های مختلف محاسبه گردید (Masoumi et al., 2016). میزان جذب با استفاده از رابطه ۱ بدست آمده است (Huang and Liu, 2013).

$$q_e = (C_0 - C_e) \frac{V}{M} \quad \text{رابطه ۱:}$$

که در آن:

q_e = جذب فلز (میلی گرم بر گرم)

C_0 = غلظت اولیه فلز در محلول (میلی گرم بر لیتر)

C_e = غلظت فلز در حالت تعادل در محلول (میلی گرم بر لیتر)

V = حجم محلول (لیتر)

M = جرم جاذب (گرم)

میزان تطابق داده‌های حاصل از این مرحله با مدل‌های سینتیک شبه مرتبه اول (Pseudo-first order kinetic model) و دوم (Pseudo-second order kinetic model) کاذب، بررسی شد (Lagergren, 1898). معادله سینتیک شبه مرتبه اول کاذب (رابطه ۲) و فرم خطی آن (رابطه ۳):

$$\frac{dq}{dt} = k_1(q_e - q_t) \quad \text{رابطه ۲}$$

$$\ln \frac{(q_e - q_t)}{q_e} = -k_1 t \quad \text{رابطه ۳}$$

معادله سینتیک شبه مرتبه دوم کاذب (رابطه ۴) و فرم خطی آن (رابطه ۵) (Ho, 1999):

$$\frac{dq}{dt} = k_2(q_e - q)^2 \quad \text{رابطه ۴}$$

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad \text{رابطه ۵}$$

که در آن:

q_t : مقدار ماده جذب‌شده در واحد جرم جاذب (g) در زمان t (mg.g^{-1})

q_e : ظرفیت جذب در حالت تعادل برحسب میلی مول ماده حل‌شونده به ازای هر گرم از جاذب (mg.g^{-1})

t : زمان (min)

k_1 : ثابت معادله سرعت درجه اول کاذب جذب (min^{-1})

k_2 : ثابت معادله سرعت درجه دوم کاذب جذب ($\text{g.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$)

ظرفیت جذب در حالت تعادل با استفاده از دو مدل لانگمویر و فروندلیچ قابل محاسبه است. براساس فرض مدل جذب لانگمویر، حداکثر جذب زمانی اتفاق می‌افتد که سطح بیوجاذب بطور یکنواخت در دمای ثابت توسط مولکول‌های ماده حل‌شونده بصورت تک‌لایه اشباع شده باشد در این مدل انرژی جذب ثابت است و حرکتی در مولکول‌های سطح بیوجاذب صورت نمی‌گیرد. مدل ایزوترم فروندلیچ جذب‌زیستی ماده حل‌شونده از مایع به سطح جامد را توضیح می‌دهد و اساس فرض این مدل جذب به صورت چند لایه‌ای است و بیان‌کننده جذب بر روی جایگاه‌های غیرهمگن با توزیع غیریکنواخت است (Huang and Liu, 2013; Masoumi *et al.*, 2016).

ایزوترم تعادلی لانگمویر از رابطه ۶ بدست آمد (Langmuir, 1918).

$$q_e = \frac{b q_m C_e}{1 + b C_e} \quad \text{رابطه ۶}$$

ایزوترم تعادلی فروندلیچ از رابطه ۷ بدست می‌آید. در این مدل فرض می‌شود که جذب به صورت برگشت‌پذیر بر روی مکان‌های غیریکنواخت انجام می‌گردد و این مدل برای جذب چند لایه مناسب است (Freundlich, 1926).

$$q_e = K_f C_e^{\frac{1}{n}} \quad \text{رابطه ۷}$$

که در آن:

q_e : ظرفیت جذب در حالت تعادل برحسب میلی‌گرم ماده حل‌شونده به ازای هر گرم از جاذب (mg.g^{-1})

بررسی سینتیک جذب فلز کادمیوم توسط باکتری (هالوموناس) جداسازی شده از تالاب میانکاله / شعبان نژاد و همکاران

C_e : غلظت ماده حل شدنی در حالت تعادل بر حسب میلی گرم (mg)

q_m : حداکثر ظرفیت جذب بر حسب میلی گرم ماده حل شونده به ازای هر گرم از جاذب (mg.g^{-1})

b : ثابت معادله لانگمویر حسب هر لیتر از محلول بر هر میلی گرم از جاذب شونده (lit.mg^{-1})

K_f : ظرفیت جذب ($\text{mg}^{1-1/n} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{L}^{1/n}$)

n : شدت جذب (مقدار n بزرگتر از ۱ می باشد)

در این تحقیق هر یک از آزمایشات با سه تکرار انجام شد. محاسبه میانگین و انحراف معیار داده ها، و مدل رگرسیون و رسم نمودارها در نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۱۳ انجام شدند.

نتایج

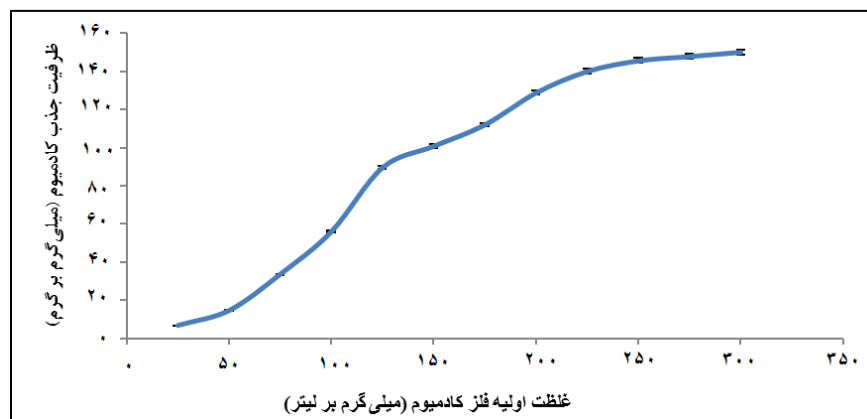
نتایج آزمایشات شناسایی و خصوصیات بیوشیمیایی باکتری منتخب در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: مشخصات مورفولوژیک و خصوصیات بیوشیمیایی باکتری منتخب.

آزمایشات بیوشیمیایی	خصوصیات باکتری منتخب
رنگ آمیزی گرم	-
شکل سلولی باکتری	میله ای
رنگ کلنی	زرد
تولید H_2S	-
حرکت	+
تولید اندول	-
متیل رد	-
وژز-پروسکوئر (Vp)	-
سیمون سیترات	-
هیدرولیز ژلاتین	-

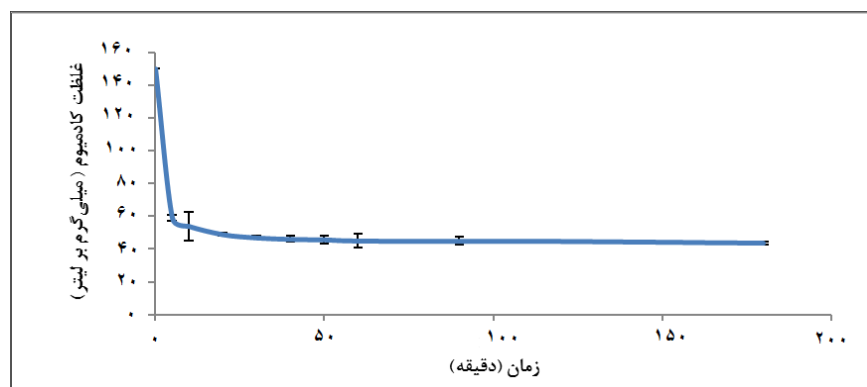
رشد باکتری ها در حضور غلظت های ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۴۰ و ۶۰ میلی گرم بر لیتر از فلز کادمیوم مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تنها یک باکتری نمک دوست (هالوموناس) قادر به رشد در غلظت ۶۰ میلی گرم بر لیتر بوده است که این باکتری مقاوم به فلز کادمیوم، در زیر میکروسکوپ مشاهده شد که از نوع میله ای گرم منفی بوده است.

ظرفیت جذب زیستی کادمیوم در محدوده ۲۵ تا ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر را در شرایط ثابت ($\text{pH}=8$ ، دما ۳۰ درجه سانتی گراد، شوری ۱۰ درصد، مقدار جاذب = ۱ میلی گرم بر لیتر) در شکل ۱ نشان داده شده است. در این مطالعه جذب زیستی کادمیوم با افزایش غلظت اولیه یون فلزی از ۲۵ تا ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر با سرعت بیشتری افزایش یافت ولی با افزایش غلظت اولیه از ۱۵۰ تا ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر از سرعت آن کاسته شد و سپس ثابت شد و به حالت تعادل رسید. بنابراین بهینه غلظت اولیه فلز کادمیوم برای سویه منتخب در تحقیق حاضر ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر انتخاب گردید.

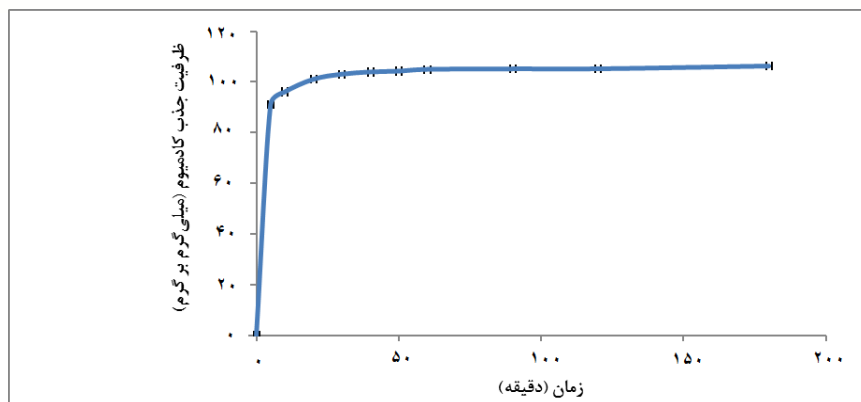


شکل ۱: تأثیر غلظت اولیه فلز کادمیوم بر میزان ظرفیت جذب کادمیوم.

سرعت جذب یکی از مهمترین فاکتورهایی است که در طراحی آزمایشات جذب در محیط آزمایشگاهی مورد توجه قرار می‌گیرد. غلظت کادمیوم باقیمانده در محلول در زمان‌های مختلف در شکل ۱ آمده است. در ۵ دقیقه اول آزمایش غلظت کادمیوم باقیمانده در محلول از ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به ۵۹ میلی‌گرم بر لیتر کاهش یافت. همان‌گونه که در شکل ۲ مشاهده می‌شود در زمان اولیه سرعت جذب بسیار بالاست. به طوریکه در ۵ دقیقه اول ۶۰ درصد و در ۴۰ دقیقه اول ۷۰ درصد جذب صورت گرفته است. نتایج نشان داد که با گذشت زمان، ظرفیت جذب افزایش اما شدت جذب کاهش یافت که بعد از گذشت ۴۰ دقیقه به حالت تعادلی خود رسید (شکل ۳).

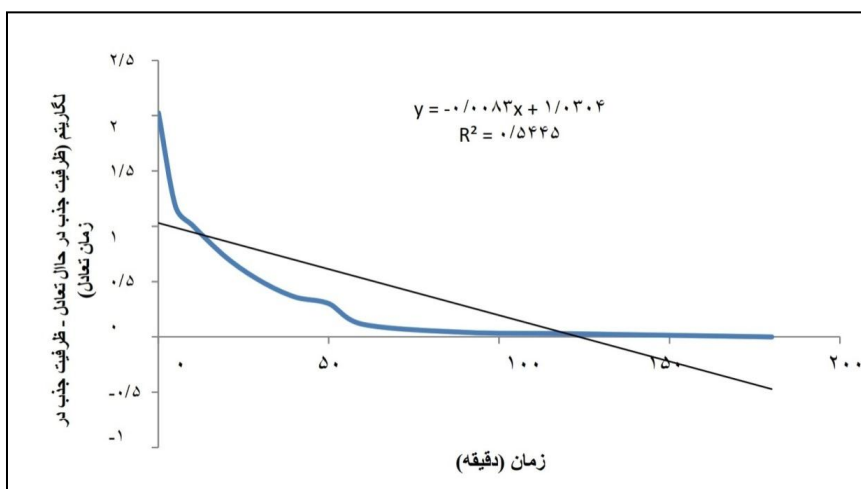


شکل ۲: تأثیر تغییرات زمان تماس بر میزان غلظت کادمیوم باقیمانده در محلول.

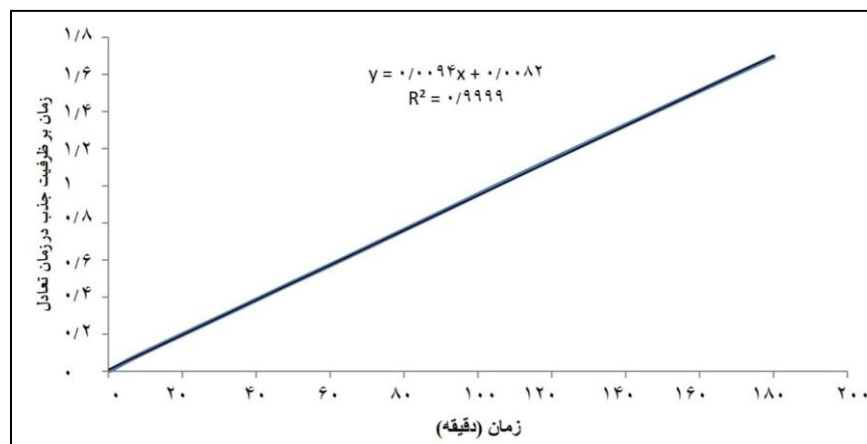


شکل ۳: تأثیر تغییرات زمان تماس بر میزان ظرفیت جذب کادمیوم توسط باکتری.

اشکال ۴ و ۵ نتایج حاصل از تطبیق داده‌های سینتیکی با دو مدل سینتیک شبه مرتبه اول و دوم را نشان می‌دهد. نتایج نشان دادند که ضریب همبستگی شبه مدل مرتبه دوم ($R^2 = 0.999$) نسبت به شبه مدل مرتبه اول ($R^2 = 0.544$) بسیار بیشتر بوده است به عبارتی فرآیند جذب زیستی با مدل سینتیک شبه مرتبه دوم انطباق بیشتری داشت (جدول ۲).



شکل ۴: نمودار سینتیک شبه مرتبه اول.

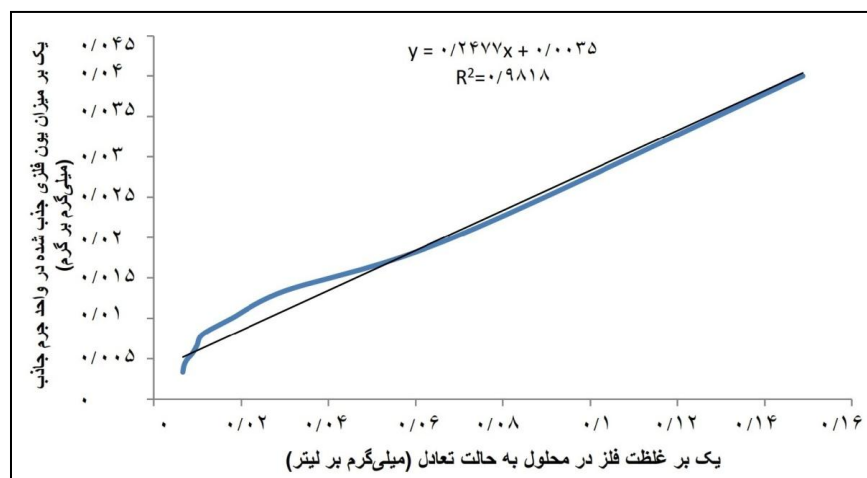


شکل ۵: نمودار سینتیک شبه مرتبه دوم.

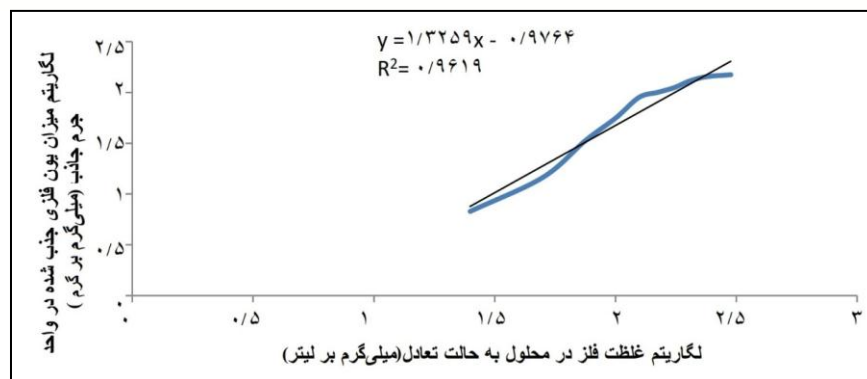
جدول ۲: پارامترهای سینتیک به دست آمده مدل‌های شبه مرتبه اول و دوم.

سینتیک		پارامتر
درجه اول	درجه دوم	
۱۰/۷۱	۱۱۱/۱۱	ظرفیت جذب (میلی گرم بر گرم)
۰/۰۱۸	۰/۰۱	ثابت سرعت تعادل (k)
۰/۵۴	۰/۹۹	ضریب همبستگی (R^2)

جذب فلز کادمیوم توسط باکتری با استفاده از مدل‌های ایزوترم لانگمویر و فروندلیچ در مقادیر مختلف غلظت اولیه فلز کادمیوم بررسی گردید (اشکال ۶ و ۷). نتایج مدل‌های ایزوترم نشان دادند که ضریب همبستگی در مدل لانگمویر ($R^2 = 0.981$) نسبت به مدل فروندلیچ ($R^2 = 0.961$) بیشتر بوده است (جدول ۳).



شکل ۶: مدل ایزوترم لانگمویر.



شکل ۷: مدل ایزوترم فروندلیچ.

جدول ۳: مقادیر ثابت جذب سطحی فلز کادمیوم توسط باکتری با استفاده از شبیه سازی با مدل های ایزوترم لانگمویر و فروندلیچ.

مدل	لانگمویر			فروندلیچ		
	پارام	R^2	$\frac{b}{q_{\max}}$	R^2	N	k_f
تر						
مقاد	۰/۹۸	۰/۱۲	۷۶/۹۲	۰/۹۶	۰/۷۵	۹/۴۱
یر						

بحث و نتیجه گیری

مطالعات نشان داده است جذب فلز کادمیوم در اکوسیستم های آبی می تواند توسط بیوجاذب ها از جمله جلبک ها (Chojnacka *et al.*, 2005)، باکتری ها (Amoozegar *et al.*, 2012)، و قارچ ها (Viraghavanand Yan, 2003) با سرعت و کارایی بالایی صورت گیرد. اگرچه مطالعات متعدد نشان داده است که مقایسه روش های مختلف که همچنین از بیوجاذب های مختلف استفاده گردید، دشوار می باشد. باکتری های نمک دوست متوسط که شامل گروه های مختلف می باشند در محیط هایی با شوری ۵ تا ۱۵ درصد رشد مناسبی دارند (Ventosa *et al.*, 1988). جهت به کارگیری این باکتری ها در فرایند حذف فلزات، اولین مرحله شناسایی سویه های مقاوم به فلز مورد نظر است (Amoozegar *et al.*, 2012). به طور کلی، تعیین غلظت اولیه یون های فلز جذب شونده در محلول به جهت نقش این یون ها به عنوان نیروی محرک برای غلبه بر نیروی مقاومت انتقال جرم بین فاز مایع و فاز جامد در فرایند جذب دارای اهمیت است (Kulkarni *et al.*, 2014). بنابراین انتظار می رود که مقدار یون های فلزی جذب شده با افزایش غلظت اولیه فلز افزایش یابد. در این تحقیق با افزایش غلظت اولیه فلز کادمیوم، ظرفیت جذب کادمیوم نیز افزایش یافت. بطوری که در غلظت اولیه ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر میزان ظرفیت جذب فلز کادمیوم توسط باکتری معادل ۸۹/۶ میلی گرم بر گرم می باشد که با افزایش غلظت فلز در محیط، جذب نیز افزایش پیدا کرد، زیرا با افزایش غلظت فلز، میزان بیشتری از فلز در معرض گروه های سطحی باکتری قرار می گیرد، اما تا حدی این افزایش غلظت با افزایش جذب همراه است و بعد از آن با توجه به ثابت بودن میزان باکتری و جایگاه های جذب بر روی توده سلولی، میزان جذب با نرخ بسیار کندی صورت می گیرد یا ثابت می ماند (King *et al.*, 2006).

مدت زمان تماس فلز با سطح باکتری نقش مهمی در حذف فلز سنگین کادمیوم توسط باکتری منتخب به‌عنوان یک جاذب ایفاء می‌کند. سینتیک جذب فلز کادمیوم توسط باکتری منتخب طی دو مرحله: مرحله اولیه جذب سریع و مرحله ثانویه جذب کند، صورت گرفت، بطوری که در ۵ دقیقه اول به میزان ۹۱/۱۲ میلی‌گرم بر گرم از فلز کادمیوم (۶۰ درصد) جذب گردید که در این مرحله نیاز به صرف انرژی نداشت و طی ۴۰ دقیقه به بیشترین مقدار خود یعنی ۱۰۳/۹ میلی‌گرم بر گرم (۷۰ درصد) رسید و بعد از آن ثابت باقی ماند ($P \leq 0.05$). به‌عبارتی دیگر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که ۶۰ درصد از جذب فلز کادمیوم توسط باکتری هالوموناس وابسته به متابولیسم نبوده و می‌تواند حتی توسط توده غیرزنده باکتری هم صورت گیرد. بنابراین استفاده از این روش جهت جذب فلزات، نیاز به صرف زمان طولانی و هزینه‌های اقتصادی بالایی نیست. حداکثر جذب فلز توسط جاذب زیستی در دقایق اولیه توسط دیگر مطالعات نیز گزارش شد (Limcharoensuk et al., 2015; Hawariet et al., 2006). به‌عنوان مثال نتایج مطالعه حاضر با تحقیقی که با عنوان جذب زیستی کادمیوم و سرب توسط باکتری هالوموناس که در سایر اکوسیستم‌های ایران انجام گرفت مطابقت داشت، چراکه این باکتری نیز قادر بود ۷۸/۴ درصد از فلز کادمیوم را در همان دقایق اولیه با سرعت بالایی حذف کند (Amoozegar et al., 2012). مطالعه حاضر نشان داد که سرعت بالای جذب این باکتری در دقایق ابتدایی و به تعادل رسیدن آن بعد از ۴۰ دقیقه، می‌تواند ناشی از آن باشد که در ابتدا جایگاه‌های جذبی روی سطح دیواره سلولی باکتری به سرعت توسط یون‌های فلزی اشغال شده و باگذشت زمان به علت اشباع شدن آن جذب متوقف می‌شود (Tunali et al., 2006). همچنین پس از جذب یون‌های فلزی بر جایگاه‌های اتصال در سلول، نیروی دافعه بین یون‌های جذب‌شده بر سطح سلول و یون‌های فلزی محلول در محیط باعث توقف جذب بیشتر یون‌های فلزی می‌گردد (Hussain et al., 2009). با توجه به اینکه منحنی سینتیک جذب در مطالعه حاضر از نوع درجه دوم پیروی کرد می‌توان نتیجه‌گیری کرد که نرخ جذب فلز کادمیوم توسط باکتری منتخب با استفاده از جذب شیمیایی محدود شده و یا به حالت تعادل رسیده است. اغلب مطالعات نشان دادند جذب فلزات توسط بیوجاذب‌های متفاوت از منحنی سینتیک درجه دوم پیروی کردند (Viraghavan and Yan, 2003; Huang and Liu, 2013; Kulkarni et al., 2014; Verma et al., 2017; Hameed et al., 2008). همچنین در مطالعه‌ای که توسط Chen و همکاران در سال ۲۰۰۸ جهت تعیین رفتار سینتیک جذب فلزات انجام گرفت مشخص شد که جذب فلزات سنگین در محلول‌های آبی عمدتاً از منحنی سینتیک درجه دوم پیروی می‌کند. در مطالعه حاضر داده‌های تعادلی فرایند جذبشان داد که از مدل ایزوترم لانگمویر که دارای ضریب همبستگی بیشتری نسبت به مدل فروندلیچ داشت پیروی کرده است. این نتایج بیانگر این است که مدل فروندلیچ به درستی قادر به توضیح رابطه بین مقادیر یون‌های فلزی جذب‌شده و غلظت تعادلی آن‌ها در محلول نبوده است. در حالی که مدل ایزوترم لانگمویر با ضریب همبستگی بالا نشان داد که سطح باکتری (با فرض این که انرژی باکتری ثابت بوده است و هیچ جابجایی یا حرکتی در مولکول‌ها در سطح باکتری رخ نداده است) با یک لایه از یون‌های کادمیوم محلول در آب اشباع شد. بنابراین به‌کارگیری مدل ایزوترم لانگمویر برای جذب زیستی یون‌های فلز کادمیوم نشان‌دهنده حداکثر جذب زیستی در جایگاه‌های فعال روی سطح باکتری هالوموناس می‌باشد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق می‌توان نتیجه‌گیری کرد که باکتری بومی هالوفیل گرم منفی (*Halomonas*) بررسی شده تالاب میانکاله پتانسیل بالایی جهت جذب فلز کادمیوم (۱۰۳/۹ میلی‌گرم بر گرم) از محیط‌های آبی دارد از آنجایی که نگرانی تداوم ورود آلاینده‌های سمی به‌ویژه فلزات سنگین به دلیل عدم تصفیه اصولی فاضلاب شهری، پساب صنایع مختلف به تالاب میانکاله و دریای خزر وجود دارد و از طرفی این تالاب به‌عنوان یکی از اکوسیستم‌های آب نسبتاً شور که زیستگاه بعضی از گونه‌های نادر گیاهی و جانوری ایران نیز بشمار می‌آید، لذا حفاظت از این اکوسیستم آبی نسبتاً شور و حذف آلاینده‌های مختلف به‌خصوص حذف زیستی فلزات سنگین آن توسط بیوجاذب‌های بومی (بعنوان مثال: باکتری‌های بومی تالاب) بسیار حائز اهمیت است. لذا با توجه به موارد فوق‌الذکر پیشنهاد می‌گردد از باکتری جنس *Halomonas* به عنوان یک میکروجاذب زیستی و روشی مقرون به‌صرفه، برای جذب دیگر آلاینده‌ها هم مورد بررسی قرار گیرد. از این باکتری

نیز می‌توان برای تصفیه پساب‌ها بدون صرف هزینه‌های گزاف بکار گرفت. همچنین یون‌های فلزی با ارزش را می‌توان با استفاده از فناوری جذب‌زیستی توسط باکتری هالوموناس از پساب صنایع مختلف بازیافت نمود.

منابع

- بخشی، س.، سعودی، م.، غفوریان، ح. و احمدی فقیه، م.، ۱۳۸۶. جذب سزیم توسط باکتری‌های هالوفیل و هالوتورنت و بررسی اثر فاکتورهای مختلف بر روی جذب. مجله پژوهشی علوم پایه دانشگاه اصفهان شماره ۲۸، صفحات ۱۵-۳۰.
- سینکاگریمی، م. ح.، پورخباز، ع. و حسن‌پور، م.، ۱۳۹۵. بررسی استفاده از آب و بافت پرندگان آبی جهت سنجش آلودگی فلزی (مطالعه موردی: تالاب‌های بین‌المللی میانکاله و گمیشان). فصلنامه علمی پژوهشی اکوبیولوژی تالاب، شماره ۲۳، صفحات ۱۵-۲۸.
- مهدی نژاد، س.، توانا، ا. و راهنوز، آ.، ۱۳۹۶. بررسی میزان کادمیوم، سرب، مس و روی در رسوبات سطحی تالاب میانکاله و مقایسه با راهنمای کیفیت رسوبات (ERL-ERM). انسان و محیط‌زیست، شماره ۱، صفحات ۶۹-۶۲.
- وزین، ن.، رکن‌الدین افتخاری، ع.، پور طاهری، م. و دانه‌کار، ا.، ۱۳۹۴. راهبردهای توسعه زیست سازگار با اکوسیستم تالاب براساس الگوی بوم روستا در روستاهای حاشیه تالاب‌های میانکاله و لپوی زاغمرز با استفاده از روش SWOC و ماتریس QSPM. محیط‌زیست (منابع طبیعی ایران)، شماره ۶۸، صفحات ۵۰۵-۵۲۰.
- محسنی، م.، ۱۳۸۹. تکنیک‌ها در میکروبیولوژی. انتشارات دانشگاه مازندران، چاپ اول، ۲۶۴ ص.

- Ahmady-Asbchin, S. and Bahrami, A. M., 2011. Nickel biosorption by immobilized of *Bacillus* sp. from aqueous solutions. *Advances in Environmental Biology*, 7: 1656-1662.
- 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.
- Chen, Z., Ma, W. and Han, M., 2008. Biosorption of nickel and copper onto treated alga (*Undaria pinnatifida*): Application of isotherm and kinetic models. *Journal of Hazardous Materials*, 155(1-2): 327-333.
- Chojnacka, K., Chojnacki, A. and Gorecka, H., 2005. Biosorption of Cr³⁺, Cd²⁺ and Cu²⁺ ions by blue-green algae *Spirulina* sp.: kinetics, equilibrium and the mechanism of the process. *Chemosphere*, 59(1): 75-84.
- Clark, R. B., 1992. *Marine Pollution*. 4th ed. Oxford: Oxford University Press.
- Freundlich, H., 1926. *Colloid and Capillary Chemistry*, Methuen, London. *Journal of Chemical Education*, 3 (12), p 1454.
- Garabito, M. J., Arahall, D. R., Mellado, E., Márquez, M.C. and Ventosa, A., 1997. *Bacillus salexigens* sp. nov., a new moderately halophilic *Bacillus* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47(3): 735-741.
- Ginn, B. R. and Fein, J. B., 2008. The effect of species diversity on metal adsorption onto bacteria. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 72(3): 39-48.
- Hameed, B. H., Mahmoud, D.K. and Ahmad, A. L., 2008. Equilibrium modeling and kinetic studies on the adsorption of basic dye by a low cost adsorbent: coconut (*Cocos nucifera*) bunch waste. *Journal of Hazardous Materials*, 158: 65-72.
- 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(4): 692-700.
- Ho, Y. S., 1999. McKay G. Pseudo-second order model for sorption processes. *Process Biochemistry*, 34: 451-65.
- 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.

- Jager, L. P., Rijnierse, F. V., Esselink, H. and Baars, A. J., 1996.** Biomonitoring with the Buzzard *Buteo buteo* in the Netherlands: heavy metals and sources of variation. *Journal Für Ornithologie*, 137(3): 295–318.
- 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).
- King, M. D., Humphrey, B. J., Wang, Y. F., Kourbatova, E. V., Ray, S. M. and Blumberg, H. M., 2006.** Emergence of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA 300 clone as the predominant cause of skin and soft-tissue infections. *Annals of internal medicine*, 144(5): 309–317.
- 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.
- Lagergren, S., 1898.** About the theory of so called adsorption of soluble substances. *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens. Handlingar*, 24 (4): 1–6.
- Langmuir, I., 1918.** The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. *Journal of the American Chemical Society*, 40: 1361–1403, doi:http://dx.doi.org/ 10.1021/ja02242a004.
- 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.
- MacFaddin, J. F., 2000.** Biochemical tests for identification of medical bacteria. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Masoumi, F., Khadivinia, E., Alidoust, L., Mansourinejad, Z., Shahryari, S., Safaei, M. and 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.
- Margesin, R. and Schinner, F., 2001.** Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56(5): 650–663.
- Massadeh, A. M., Al-Momani, F. A., and Haddad, H. I., 2005.** Removal of lead and cadmium by halophilic bacteria isolated from the Dead Sea shore, Jordan. *Biological Trace Element Research*, 108(1-3): 259–269.
- Moreno, M. L., Mellado, E., Garcia, M. T. and Ventosa, A., 2007.** Diversity of extreme halophiles producing hydrolytic enzymes in hypersaline habitats, *Halophiles-2007 booklet*, 59–60.
- Regine, H. S., Vieira, F. and Volesky, B., 2000.** Biosorption: a solution to pollution?. *International Microbiology*, 3(1): 17–24.
- Robards, K. and Worsfold, P., 1991.** Cadmium: toxicology and analysis. A review. *Analyst*, 116: 549–568.
- Romera, E., Gonzalez, F., Ballester, A., Blazquez, M. L. and Munoz, J. A., 2006.** Biosorption with algae: a statistical review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 26(4): 223–235.
- Sheoran, A. S. and Sheoran, V., 2006.** Heavy metal removal mechanism of acid mine drainage in wetlands: A critical review. *Minerals Engineering*, 19: 105–116.
- Shirdam, R., Khanafari, A. and Tabatabaee, A. 2006.** Cadmium, nickel and vanadium accumulation by three strains of marine bacteria. *Iranian Journal of Biotechnology*, 4(3): 180–187.
- Sobolewski, A., 1999.** A review of processes responsible for metal removal in wetlands treating contaminated mine drainage. *International Journal of Phytoremediation*, 1 (1): 19–51.
- Tabari, S., Saravi, S., Bandany, G., Dehghan, A. and Shokrzadeh, M., 2010.** Heavy metals (Zn, Pb, Cd and Cr) in fish, water and sediments sampled from Southern Caspian Sea, Iran. *Toxicology and Industrial Health*, 26(10): 649–656.
- Tunali, S., Akar, T., Özcan, A. S., Kiran, I. and Özcan, A., 2006.** Equilibrium and kinetics of biosorption of lead (II) from aqueous solutions by *Cephalosporium aphidicola*. *Separation and Purification Technology*, 47(3): 105–112.

- Ventosa, A., Nieto, J. and Oren, A., 1998.** Biology of Moderately Halophilic Aerobic Bacteria. *Microbiology Molecular Biology Reviews*, 62: 504–544.
- Vieira, R. H. and Volesky, B., 2010.** Biosorption: a solution to pollution?. *International Microbiology*, 3(1): 17–24.
- Viraghavan, T. and Yan, G., 2003.** Heavy metal removal from aqueous solution by fungus *Mucor rouxii*. *Water Research*, 37: 96–4486.
- Verma, A., Kumar, S. and Kumar, S., 2017.** Statistical modeling, equilibrium and kinetic studies of cadmium ions biosorption from aqueous solution using *S. filipendula*. *Environmental Chemical Engineering*, 5 (3): 2290–2304.