

Optimization the Removal of Nickel from Simulated Wastewater by A *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Supported on Clinoptilolite

Roghayeh Sadat Salehnezhad¹, Mitra Ataabadi^{2*}

1. Department of Soil Sciences, Faculty of Agriculture & Natural Resources, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
2. Department of Soil Sciences, Faculty of Agriculture & Natural Resources and Waste and Wastewater Research Center, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

* E-mail: mitra_ataabadi@yahoo.com

Received: 10 Jul 2018 ; Accepted: 2 Sep 2018

ABSTRACT

Background & Objectives: Nickel toxicity and its bioaccumulation potential in organisms at high concentrations, the use of cost-effective and environmental friendly remediation methods is necessary for the removal of nickel from polluted water and wastewaters. Bacterial biofilm be able to remove heavy metals from aqueous solutions and accumulate them in their cell structure. Therefore, the purpose of this study was to evaluate the nickel removal efficiency by biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* supported on clinoptilolite.

Methods: In this study, a strain of *Pseudomonas aeruginosa* as a biofilm coating supported on clinoptilolite. To ensure the establishment of biofilms, scanning electron microscopy was used. The effect of concentration, pH, support medium dosage, temperature and contact time were evaluated in 5 levels, and finally, the results were assessed by adsorption isotherm models.

Results: The findings indicated that the maximum removal efficiency by biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* supported on clinoptilolite (99/47%) was achieved in optimal condition containing 900 mg. L⁻¹ of nickel concentration, pH of 9, supporting medium dosage (clinoptilolite) 2.36 g. L⁻¹, temperature of 25 ° C and the contact time of 45 days. The fitness of data in Freundlich adsorption isotherm model revealed that the heterogeneity of adsorbent surface.

Conclusion: This study indicates that the use of biofilm coating on the surface of clinoptilolite, can be a good candidate to remove the nickel from the aqueous media.

Keywords: Nickel, Clinoptilolite, Biofilm, *Pseudomonas aeruginosa*

بهینه سازی پاکسازی نیکل از پساب شبیه سازی شده توسط بیوفیلم استقرار یافته باکتری سودوموناس آئروژینوزا بر روی کلینوپتیلولایت

رقیه سادات صالح نژاد^۱، میترا عطاآبادی^{۲*}

^۱ گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران
^۲ گروه علوم خاک و عضو مرکز تحقیقات پسماند و پساب، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۴/۱۹ : تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۶/۱۱

چکیده

سابقه و هدف: سمیت و توانایی تجمع زیستی فلز نیکل در جانداران در غلظت های بالا، پاکسازی آب و فاضلاب آلوده از این عنصر با استفاده از روش های کم هزینه و دوستدار محیط زیست را امری مهم و ضروری ساخته است. بیوفیلم باکتری ها قادر به جذب فلزات سنگین از محیط آبی و تجمع آن در ساختمان سلولی خود است. بنابراین هدف پژوهش حاضر ارزیابی راندمان پاکسازی نیکل توسط بیوفیلم استقرار یافته باکتری سودوموناس آئروژینوزا بر روی کلینوپتیلولایت بوده است.

مواد و روش ها: در این مطالعه مقطعی، سویه ای از باکتری سودوموناس آئروژینوزا در قالب پوشش بیوفیلم بر روی کلینوپتیلولایت استقرار یافت. برای حصول اطمینان از استقرار بیوفیلم از مطالعات میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. اثر عوامل، غلظت، pH، مقدار بستر، دما و زمان تماس در ۵ سطح مورد بررسی قرار گرفت و نهایتاً نتایج توسط مدل های همدمای جذب مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: بیانگر حداکثر راندمان پاکسازی ۹۹/۴۷ درصد توسط بیوفیلم استقرار یافته باکتری سودوموناس آئروژینوزا بر روی کلینوپتیلولایت در شرایط بهینه غلظت اولیه نیکل ۹۰۰ میلی گرم در لیتر، pH معادل ۹، ۲/۳۶ گرم در لیتر کلینوپتیلولایت، دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و زمان تماس ۴۵ روز بود. برآزش داده ها در مدل همدمای جذب فروندلیچ حاکی از عدم یکنواختی پوشش سطح جاذب است.

نتیجه گیری: مطالعه حاضر نشان دهنده آن است که کاربرد پوشش بیوفیلم در سطح کلینوپتیلولایت، می تواند روش مناسبی برای پاکسازی نیکل از محیط های آبی باشد.

کلمات کلیدی: نیکل، کلینوپتیلولایت، بیوفیلم، سودوموناس آئروژینوزا

مقدمه

یکی از مهمترین مسائل دنیای امروز، آلودگی محیط زیست به فلزات سمی و خطرناک است. استخراج فلزات از معادن و کاربرد گسترده فلزات سنگین در صنایع باعث شده که غلظت این فلزات در آب، فاضلاب، هوا و خاک افزایش یابد.^۱ تخلیه انواع پساب های خانگی، شهری، صنعتی و زهکشی های کشاورزی سهم عمده ای در این آلودگی ها دارند. آلودگی یکی از مهمترین عواملی است که باعث هدر رفتن منابع آبی می گردد. محدود بودن منابع آبی، کمبود بارندگی، خطر بحران کم آبی در کشور و اهمیت بازیابی مجدد آب از یک سو و افزایش آلودگی آب های سطحی و زیرزمینی به وسیله فلزات سنگین و سایر آلاینده های حاصل از پساب های صنعتی از سوی دیگر، یافتن راه حل های زیست محیطی جهت حذف این مواد از منابع را ضروری می سازد. پساب های صنعتی حاوی مقادیر قابل توجهی از فلزات سنگین همچون کروم، نیکل، کادمیوم، روی و سرب می باشند.^۲

نیکل یکی از فلزات صنعتی مهم است که در تولید محصولات مختلف استفاده می شود. نیکل از طریق پساب تولیدی صنایع الکترونیک، سکه زنی، جواهر سازی، رنگ سازی، ساخت استیل های ضد زنگ و غیره به محیط زیست، آب های سطحی و زیر زمینی وارد می شود. بر اساس استاندارد حفاظت محیط زیست آمریکا (USEPA) حداکثر غلظت مجاز نیکل در پساب، ۰/۲ میلی گرم در لیتر می باشد.^۳ برای حذف فلزات سنگین از محیط های آبی روشهای متعددی از جمله روش تبادل یونی، استخراج حلال، الکترودیالیز، ترسیب، انعقاد و لخته سازی، اسمز معکوس، فیلتراسیون، جذب توسط کربن فعال و روشهای غشائی ارائه شده است.^{۴-۵} گرچه این روشها به طور گسترده ای مورد

استفاده قرار گرفته اند، اما دارای معایب قابل توجهی از جمله نیاز به صرف انرژی بالا و درعین حال راندمان پایین، شرایط عملیاتی حساس، نیاز به مواد شیمیایی خاص، تولید مقادیر زیاد لجن، مشکلات دفع لجن با محتوی مقادیر قابل توجهی فلز سنگین و در مواردی هزینه های بالا می باشند^{۶-۷} که کاربرد این روش ها را محدود نموده است. بنابراین استفاده از یک روش مناسب، کار آمد و البته کم هزینه در راستای حذف این آلاینده ها از محیط، از اهمیت زیادی برخوردار خواهد بود.^{۷-۸}

پدیده ی جذب بیولوژیکی یک فرآیند متابولیکی و غیر متابولیکی است که در آن، فلزات سنگین توسط جایگاه های جذب موجود در دیواره سلولی جذب می شوند و یا در فرآیند های بیوشیمیایی سلول شرکت می کنند. انواع مختلفی از میکروارگانیسم ها از جمله باکتری ها، مخمرها، قارچ ها و جلبک ها در این فرآیند مورد استفاده قرار می گیرند. در این میان باکتری ها بدلیل داشتن نسبت سطح به حجم بالا، فراوانی حضور در محیط های مختلف، توانایی سازگاری با اکثر شرایط محیطی و توانایی تولید بیوفیلم میکروبی به عنوان یک جاذب بیولوژیکی کارآمد مورد توجه می باشند.^۹ بیوفیلم میکروبی یک کپسول هیدراته از ترکیبات پلیمری برون سلولی (EPS) است که توانایی بالایی برای جذب فلزات سمی دارد. EPS یک ماتریکس غنی از پلی ساکارید ها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک و همچنین حاوی چندین گروه فعال مانند کربوکسیل، فسفریک، آمین و هیدروکسیل می باشد.^{۱۰} این ماتریکس پلیمری واجد عملکردهای مهمی شامل چسبندگی به سطوح، تشکیل موانع حفاظتی در مقابل آفت کش ها و مواد سمی و مضر و امکان جذب یونهای آلی و غیرآلی از محیط است.^{۱۱-۱۲} با این حال بیوفیلم معلق اولاً قادر به جذب مداوم آلاینده ها نبوده و ثانیاً امکان خروج آن از محیط آبی

جاذب زیستی به پارامترهای مختلف فیزیکوشیمیایی از جمله غلظت اولیه آلاینده، pH، مقدار مصرفی جاذب، دما، زمان تماس آلاینده با جاذب و شدت تماس آنها بستگی دارد. بنابراین بهینه سازی سطوح پارامترهای مذکور، نقش مؤثری در افزایش راندمان پاکسازی بیوفیلم ایفا می نماید. از جمله روش های بهینه سازی که در سال های اخیر مورد توجه محققین قرار گرفته است، روش آماری سطح پاسخ Response (RSM= Surface Method) است. روش سطح پاسخ مجموعه ای از تکنیک های آماری است که در بهینه سازی فرآیندهایی بکار می رود که پاسخ مورد نظر توسط تعدادی از متغیرها تحت تأثیر قرار می گیرد. با کمک این طرح آماری، تعداد آزمایشات کاهش یافته و کلیه ضرایب مدل رگرسیون درجه دوم و اثر متقابل فاکتورها، قابل برآورد هستند. در روش سطح پاسخ برای هر متغیر وابسته، مدلی تعریف می شود که آثار اصلی و متقابل فاکتورها را بر روی هر متغیر جداگانه بیان می نماید.^{۲۰}

بر این اساس اهداف این مطالعه شامل بهینه سازی سطوح پارامترهای موثر (غلظت اولیه نیکل، pH، مقدار مصرفی بستر، زمان تماس و دما) بر راندمان پاکسازی نیکل از پساب آلوده به وسیله بیوفیلم استقرار یافته باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* بر روی کلبینوپتیلولایت و مطالعه مدل های ایزوترم جذب نیکل بوده است.

مواد و روش ها

این تحقیق یک مطالعه تجربی-آزمایشگاهی است که به صورت پایلوت در مقیاس آزمایشگاهی و به شکل ناپیوسته در دانشگاه آزاد اصفهان (خوراسگان) انجام شد.

مطالعات میکروبی و تعیین حداکثر غلظت قابل تحمل نیکل (MTC)

جدایه ای از *سودوموناس آئرو ژینوزا* که در مطالعه پیشین،

همواره وجود دارد که علاوه بر کاهش راندمان عمل، مشکلات راهبری نیز به دنبال دارد. لذا در کاربردهای زیست محیطی بیوفیلم، استفاده از یک بستر نگهدارنده برای بیوفیلم، مشکلات فوق الذکر قابل بر طرف نمودن است.^{۱۳}

مواد طبیعی و مصنوعی متعددی به عنوان بستر نگهدارنده بیوفیلم بکار گرفته می شوند. در این بین موادی که واجد خواص جذبی برای بیوفیلم و همچنین عدم آلایندهی و در ضمن واجد ساختار متخلخل باشند، گزینه مناسبی خواهند بود. از آنجائیکه زئولایت-ها واجد خواص تبادل یونی هستند به نظر می رسد به عنوان یک بستر مناسب برای بیوفیلم بتوان از این کانی استفاده نمود.^{۱۴} زئولایت ها دسته ای از آلومینو سیلیکات های متخلخل با بار منفی هستند که کارایی آنها وابسته به ظرفیت تبادل کاتیونی و میزان منافذ ریز آنها است.^{۱۵} در این تحقیق به دلایلی چون گزینش پذیری بالا نسبت به انواع مختلف فلزات سنگین، پایداری شیمیایی، فیزیکی و حرارتی مطلوب، قیمت بسیار ارزان و دسترسی آسان^{۱۶} از زئولایت به عنوان بستر نگهدارنده استفاده شده است.

پاکسازی فلزات سنگین به وسیله بیوفیلم تثبیت شده بر روی انواع مختلفی از تکیه گاهها، توسط تعدادی از محققین مورد بررسی قرار گرفته است. استفاده کارآمد از بیوفیلم استقرار یافته باکتری *آرتروباکتریوسکوزوس* توسط کواپنتلاس و تاوارس (۲۰۰۱) برای پاکسازی کروم(VI)، کادمیوم، سرب و آهن و باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* برای پاکسازی کروم(III)، نیکل و کبالت توسط کانگ و همکاران (۲۰۰۶) گزارش شده است.^{۱۸-۱۹} ملکی و همکاران (۱۳۹۰) نیز در مطالعه خود از زئولایت به عنوان بستر نگهدارنده بیوفیلم باکتری *اشرشیاکلی* به منظور پاکسازی کادمیوم از محیط آبی استفاده نمودند و گزارش کرده اند که استقرار بیوفیلم سبب افزایش راندمان پاکسازی شده است.^{۱۳}

لیکن کارایی بیوفیلم در حذف آلاینده ها در قالب یک

همراه حجم مشخصی از محیط کشت باکتری مورد نظر و حجم مشخصی از غلظت های مختلف نیکل به یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتری انتقال یافته (نمونه شاهد: حاوی کلینوپتیلولایت و فاقد باکتری بود) و به مدت ۵ تا ۴۵ روز در دماهای ۱۵، ۲۵، ۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی گراد و در شرایط اختلاط ملایم (۱۵۰ دور در دقیقه) در انکوباتور شیکردار قرار داده شد. در نهایت غلظت نیکل در نمونه های صاف شده (پس از رقیق سازی) با استفاده از سیستم شعله دستگاه جذب اتمی (Perkin Elmer Analyst 3030) اندازه گیری شد.^{۲۳}

مطالعات ناپیوسته جذب

آزمایشات جذب به صورت ناپیوسته و با تغییر فاکتورهای pH، غلظت اولیه نیکل، مقدار کلینوپتیلولایت مصرفی، دما و زمان تماس انجام گرفت و در نهایت نیکل باقی مانده در محلول توسط دستگاه جذب اتمی اندازه گیری گردید. بدین منظور برای بررسی اثر پارامترهای فوق و بهینه سازی شرایط پاکسازی نیکل، مطالعات جذب، با استفاده از روش طراحی آزمایشات صورت گرفت. برای دستیابی به شرایط بهینه ای که منتج به حداکثر پاسخ سیستم (حداکثر راندمان پاکسازی نیکل) گردد از طرح آماری سطح پاسخ (RSM) استفاده شد. بدین ترتیب که اثر هر عامل در ۵ سطح توسط طرح مرکب مرکزی (CCD) و در ۳۲ آزمایش پیشنهاد شده توسط نرم افزار Design expert 7.00 در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. حدود تغییرات پارامترهای مؤثر بر راندمان پاکسازی نیکل توسط جاذب زیستی تهیه شده در جدول ۲ ارائه شده است.

توانایی تولید بیوفیلم در حضور کروم (VI) در آن به اثبات رسیده بود، برای انجام آزمایشات انتخاب گردید^{۲۱} و حداکثر غلظت قابل تحمل (MTC=Maximum Tolerable Concentration) نیکل در حضور غلظت های مختلف نیکل (۱ تا ۴۵ میلی مولار) با استفاده از نمک نیترات نیکل تعیین گردید.^{۲۲}

آماده سازی زئولایت طبیعی (کلینوپتیلولایت)

کلینوپتیلولایت مورد استفاده در این مطالعه از شرکت افرند توسکا تهیه گردید که خصوصیات فیزیکی-شیمیایی آن در جدول ۱ ارائه شده است. این کانی با آسیاب خرد شد و با استفاده از الک استاندارد ASTM با اندازه مش ۲۷۰ دانه بندی گردید. سپس برای حذف ناخالصی ها، چندین بار با آب شهر و آب مقطر شستشو داده شده و برای اصلاح اولیه در دمای محیط خشک گردید. اصلاح اولیه به وسیله کلرید سدیم ۱ مولار به مدت زمان تماس ۷۲ ساعت صورت گرفت و نمونه ها تا منفی شدن تست نیترات نقره، چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند و در نهایت در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۲ ساعت خشک گردید.^{۲۱}

تثبیت بیوفیلم باکتری سودوموناس آئروژینوزا بر روی کلینوپتیلولایت

به منظور استقرار بیوفیلم باکتری سودوموناس آئروژینوزا بر روی کلینوپتیلولایت، محیط کشت EMB به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد استریل شده، سپس باکتری های جداسازی شده به آن تلقیح شده و به مدت ۲۴ ساعت و در شرایط اختلاط ملایم انکوبه گردید. کلینوپتیلولایت به

جدول ۱: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی زئولایت مورد استفاده

حالت	وزن مخصوص (g.Cm ⁻³)	درجه خلوص	فرمول شیمیایی	خصوصیات شیمیایی
			گنجایش تبادل کاتیونی	

فیزیکی	(%)	(³)	(me.100g ⁻¹)
پودری	۹۵	۱-۱/۸	۹۸

جدول ۲: حدود تغییرات پارامترهای مؤثر بر راندمان پاکسازی نیکل

سطح	فاکتور	غلظت اولیه نیکل		مقدار جاذب		زمان تماس	
		mg.l ⁻¹	mg.l ⁻¹	g.l ⁻¹	g.l ⁻¹	pH	روز
۱	۱	۱۰۰	۱۰۰	۱	۱	۱	۵
۲	۲	۳۰۰	۳۰۰	۲	۲	۳	۱۵
۳	۳	۵۰۰	۵۰۰	۳	۳	۵	۲۵
۴	۴	۷۰۰	۷۰۰	۴	۴	۷	۳۵
۵	۵	۹۰۰	۹۰۰	۵	۵	۹	۴۵

باکتری سودوموناس آنروژینوزا نشان داد که این جدایه برای فلز نیکل دارای MTC معادل ۲۵ میلی مولار بوده است. برای دستیابی به حداکثر راندمان پاکسازی نیکل توسط بیوفیلم استقرار یافته بر روی کلینوپتیلولایت، اقدام به بهینه سازی ۵ متغیر معرفی شده توسط روش آماری RSM گردید. بر این اساس ۳۲ آزمایش اجرا گردید که نتایج آنالیز آماری و تجزیه واریانس با استفاده از آزمون ANOVA در جدول ۳ ارائه شده است.

با توجه به جدول ۳ اثر پارامترهای pH و زمان و اثر نمای دوم غلظت و pH بر راندمان پاکسازی نیکل معنی دار شده است.

با توجه به پارامتر میانگین مربعات در جدول ۳، pH با بیشترین میانگین مربعات و غلظت با کمترین میانگین مربعات به ترتیب بیشترین و کمترین تأثیر را بر راندمان پاکسازی نیکل داشته اند.

به منظور ارزیابی صحت برازش و دقت مدل پیش بینی شده به روش سطح پاسخ، کلیه آنالیزهای آماری در سطح احتمال ۹۵ درصد انجام گردید و معادلات چندجمله ای درجه اول و درجه دوم برای فلز نیکل به منظور پیش بینی راندمان پاکسازی به عنوان عملکرد متغیرهای گوناگون در رابطه ۱ ارائه شده است.

برای حصول اطمینان از صحت شرایط بهینه پیش بینی شده توسط روش سطح پاسخ، راندمان پاکسازی نیکل برای جاذب زیستی تهیه شده در شرایط بهینه مجدداً مورد بررسی قرار گرفت.

مطالعات مربوط به ایزوترم جذب

برای تعیین بهترین رابطه توصیف کننده جذب نیکل، میزان جذب در حضور غلظت های مختلف نیکل (۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰ میلی گرم در لیتر) در شرایط بهینه بدست آمده از روش سطح پاسخ تعیین گردید و داده های بدست آمده در معادلات لانگ مویر و فروندلیچ برازش داده شد.^{۲۱}

تعیین مورفولوژی جاذب

در نهایت برای حصول اطمینان از استقرار بیوفیلم بر سطح کلینوپتیلولایت اقدام به تهیه تصویر به وسیله دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM= Scanning Electron Microscopy) مدل (Seron Als 2100) گردید.

یافته‌ها

نتایج بررسی حداکثر غلظت قابل تحمل نیکل توسط

بهبود سازی پاکسازی نیکل از پساب شنبه سازی شده توسط بیوفیلم استقرار یافته باکتری سودوموناس آئروژینوزا بر روی کلینوپتیلولایت

$$0.7692 E + 0.158 BD + 0.029 DE + 1.79826 A^2 + 1.737 B^2$$

رابطه ۱:

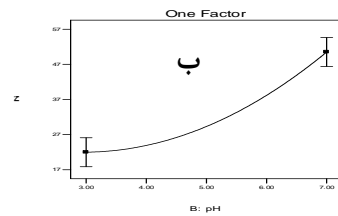
$$(\%) \text{ راندمان پاکسازی} = 136/25 + 0.178 A + 15/788 B + 2/66 C - 1/833 D +$$

جدول ۳: آنالیز واریانس برای بهبود سازی پاکسازی نیکل

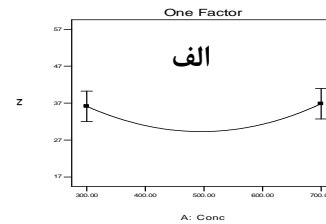
منبع	درجه آزادی	میانگین مربعات	F Value	P-Value
مدل	۸	۱۰۶۱/۹۴	۱۲/۹۵	<۰/۰۰۰۱
A: غلظت	۱	۲/۹۲	۰/۰۳۶	۰/۸۵۲۰
B: pH	۱	۴۸۷۸/۹۲	۵۹/۵۱	***۰/۰۰۰۱
C: مقدار بستر	۱	۲۳/۷۴	۰/۱۹	۰/۶۷۴۷
D: دما	۱	۸۰۲/۹۲	۲/۵۵	۰/۱۲۴۱
E: زمان	۱	۲۹۹/۵۶	۳/۶۵	*۰/۰۶۸۵
BD	۱	۱۶۰/۲۱	۱/۹۵	۰/۱۷۵۵
DE	۱	۱۴۲/۹۸	۱/۷۴	۰/۱۹۹۶
A ^۲	۱	۱۵۴۵/۲۹	۱۸/۸۵	***۰/۰۰۰۲
B ^۲	۱	۱۴۴۳/۳۸	۱۷/۶۱	***۰/۰۰۰۳
خطای باقی مانده	۲۳	۸۱/۹۸		
عدم برازش	۱۸	۹۹/۱۹	۴/۹۵	*۰/۰۶۲۶
خطای کل	۵	۲۰/۰۴		
کل	۳۱			

*معنی دار بودن P<۰/۰۵، **: P<۰/۰۱، ***: P<۰/۰۰۱

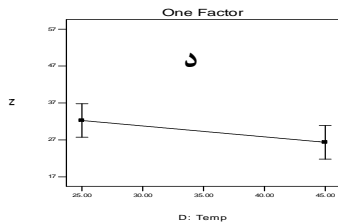
Design-Expert® Software
Ni
X1 = B: pH
Actual Factors
A: Conc = 500.00
C: Dose = 3.00
D: Temp = 35.00
E: Time = 25.00



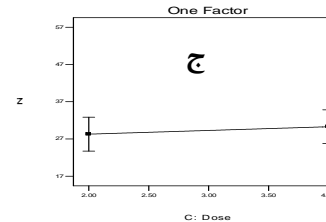
Design-Expert® Software
Ni
X1 = A: Conc
Actual Factors
B: pH = 5.00
C: Dose = 3.00
D: Temp = 35.00
E: Time = 25.00



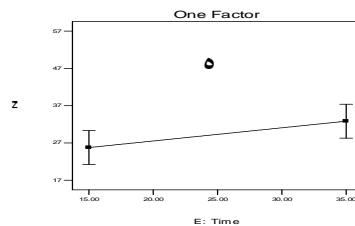
Design-Expert® Software
Ni
X1 = D: Temp
Actual Factors
A: Conc = 500.00
B: pH = 5.00
C: Dose = 3.00
E: Time = 25.00



Design-Expert® Software
Ni
X1 = C: Dose
Actual Factors
A: Conc = 500.00
B: pH = 5.00
D: Temp = 35.00
E: Time = 25.00



Design-Expert® Software
Ni
X1 = E: Time
Actual Factors
A: Conc = 500.00
B: pH = 5.00
C: Dose = 3.00
D: Temp = 35.00



شکل ۱: اثر متغیرهای مورد مطالعه بر فرآیند راندمان پاکسازی نیکل بر گرفته از آنالیز آماری توسط نرم افزار Design-Expert 7.0.0 (الف) pH، (ب) غلظت، (ج) دما، (د) مقدار کلینوپتیلولایت مصرفی، (ه) زمان

در رابطه ۱، ضریب منفی و مثبت پارامترهای مورد مطالعه،

به ترتیب نشان دهنده رابطه معکوس و مستقیم بین پارامتر مورد نظر و راندمان پاکسازی است. همانطور که در شکل ۱ نیز مشاهده می شود، در بررسی اثر پارامترهای اصلی بر راندمان پاکسازی نیکل با افزایش pH، مقدار کلینوپتیلولایت مصرفی و زمان، راندمان پاکسازی نیکل افزایش و با افزایش دما، کاهش یافته است. در ارتباط با فاکتور غلظت، این رابطه غیرخطی و متغیر است. بطوریکه راندمان پاکسازی با افزایش غلظت، در ابتدا کاهش و سپس مجدداً افزایش یافته است.

۲- نمودار (ب): این نمودار پراکنش باقی مانده ها نسبت به مقادیر برازش داده شده را نشان می دهد. برای بررسی فرض ثابت بودن واریانس باقی مانده ها، در صورتی که در این نمودار روند خاصی دیده نشود، فرض ثابت بودن واریانس هم پذیرفته می شود. در نمودار روند خاصی که نشان دهنده زیاد شدن یا کم شدن واریانس باشد، دیده نمی شود، بنابراین فرض ثابت بودن واریانس نیز پذیرفته می شود.

بر اساس نتایج، ضریب تعیین بدست آمده (۰/۸۲) از ضریب تعیین پیش بینی شده توسط مدل (۰/۵۴) بیشتر بوده است.

۳- نمودار (ج): این نمودار که نشان دهنده پراکنش باقی مانده ها نسبت به ترتیب زمان جمع آوری داده هاست، برای بررسی استقلال بین باقیمانده هاست. در صورت عدم مشاهده روند خاصی (مانند سینوسی بودن) در این نمودار، فرض مورد نظر پذیرفته می شود. با توجه به عدم مشاهده روند خاص در نمودار، فرض استقلال باقیمانده ها نیز پذیرفته می شود.

به منظور تأیید مدل سطح پاسخ، ترسیم توزیعی داده های آزمایش در مقابل مقادیر پیش بینی شده توسط مدل در شکل ۲ آورده شده است که نشان دهنده قابل قبول بودن مدل می باشد. تحلیل نمودار باقی مانده ها برای ارزیابی تناسب مدل بر سه فرض استوار می باشد:

بنابراین با توجه به تحلیل نمودار ۲ و مورد قبول واقع شدن فرض های مطرح شده، مدل انتخاب شده برای تحلیل داده ها مناسب است.

۱. باقیمانده ها دارای توزیع نرمال با میانگین صفر باشند.

شرایط بهینه پیش بینی شده برای دستیابی به حداکثر راندمان پاکسازی نیکل توسط روش سطح پاسخ شامل غلظت اولیه حدود ۹۰۰ میلی گرم در لیتر، pH معادل ۹، مقدار کلینوپتیلولایت مصرفی ۲/۳۶ گرم در لیتر، زمان تماس ۴۵ روز و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد بود و اجرای آزمایش در این شرایط با راندمان ۹۹/۵ درصد همراه بود.

۲. باقیمانده ها واریانس ثابت داشته باشند.

برای حصول اطمینان از تثبیت بیوفیلم در سطح کلینوپتیلولایت از تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده گردید. شکل ۳ تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی بیوفیلم تثبیت شده را در شرایط عدم حضور و حضور ۹۰۰ میلی گرم در لیتر نیکل نشان می دهد. پوشش ذرات

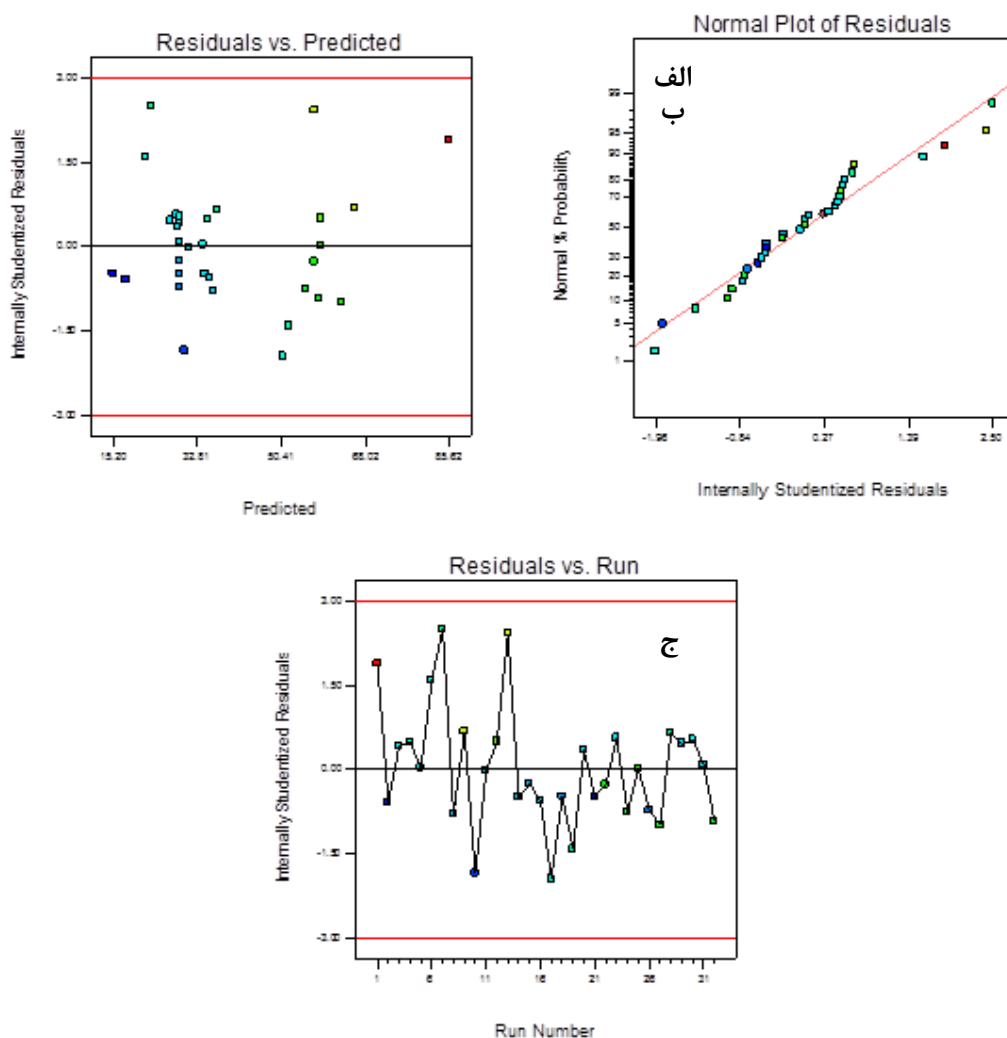
۳. باقیمانده ها مستقل باشند.

چنانچه این سه فرض درست باشند، مدل انتخاب شده معتبر می باشد، در غیر این صورت باید مدل دیگری برای بررسی داده ها انتخاب شود. بررسی درستی این فرض ها توسط نمودارهای زیر انجام گرفت.^{۲۴}

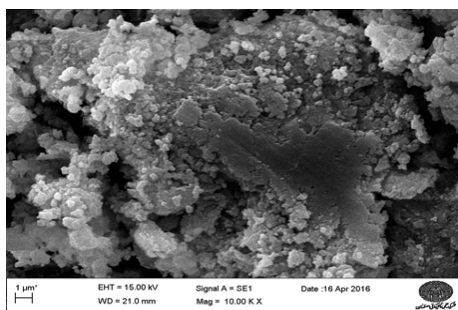
۱- نمودار (الف): نمودار p-p است که برای بررسی نرمال بودن باقیمانده ها می باشد. اگر نقاط باقیمانده ها به خط نزدیک باشند، بیان کننده نرمال بودن باقی مانده ها است. در این نمودار انحرافی در نرمال بودن باقی مانده ها دیده نمی شود، بنابراین فرض توزیع نرمال باقیمانده ها مورد قبول

بهبود سازی پاکسازی نیکل از پساب شیشه سازی شده توسط بیوفیلم استقرار یافته باکتری سودوموناس آئروژینوزا بر روی کلینوپتیلولایت

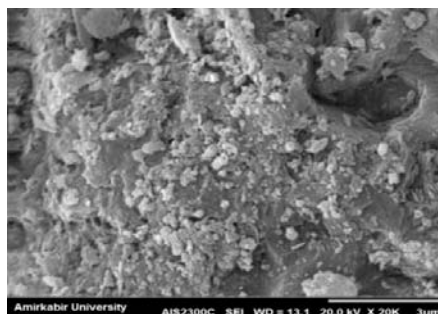
کلینوپتیلولایت به واسطه پلی ساکاریدهای برون سلولی باکتری سودوموناس آئروژینوزا در تصویر (ب) به خوبی قابل رویت است.



شکل ۲: ترسیم توزیع داده های آزمایش در مقابل مقادیر پیش بینی شده مدل



ب



الف

شکل ۳: تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی الف) کلینوپتیلولایت- بیوفیلم در شرایط عدم حضور نیکل، ب) کلینوپتیلولایت- بیوفیلم در حضور نیکل

جدول ۴: پارامترهای ایزوترم‌های جذب نیکل بر روی جاذب

فروندلیچ			لانگ مویر		
	$Q_t = K_f C_t^{1/n}$			$Q_t = \frac{Q_m b C_t}{1 + b C_t}$	
R ²	1/n	K _f	R ²	Q _m (mg.g ⁻¹)	b(l.mg ⁻¹)
۰/۹۹۸	۰/۴۶۳	۱/۶۳۲	۰/۹۵۴	۴۷۶/۱۹۰	۰/۲۴۱

جدایه در تحمل این فلز در محیط بوده و معادل ۲۵ میلی‌مولار برآورد شده است. حداکثر غلظت قابل تحمل فلزات در واقع غلظتی از فلزات است که در غلظت‌های بالاتر از آن، باکتری قادر به ادامه حیات نمی‌باشد. تعیین این پارامتر در ارزیابی مقاومت باکتری در محیط‌های آلوده می‌تواند بسیار مفید واقع شود. در مطالعات صورت گرفته، MTC نیکل برای انواع باکتری‌های موجود در پساب‌های حاوی نیکل بسیار متفاوت و به عنوان نمونه ۷ میلی‌مولار برای باکتری پروتئوس گزارش گردیده است.^{۲۵} همچنین در مطالعات صورت گرفته توسط محمدزاده و همکاران (۲۰۱۴) میزان MTC نیکل برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس* و *باسیلوس* به ترتیب برابر ۱/۲۰ و ۱/۵۴ میلی‌مولار گزارش گردیده است.^{۲۶}

در مطالعات مربوط به جداسازی و شناسایی باکتری‌های مقاوم به فلزات سنگین، حضور باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* در بین باکتری‌های مقاوم جداسازی شده به کرات گزارش شده است. راجا و همکاران (۲۰۰۶)، به وجود مقاومت چند گانه به فلزات نیکل، سرب، کادمیوم و کروم در

نتایج برازش داده‌های جذب نیکل توسط بیوفیلم استقرار یافته در مدل‌های لانگ مویر و فروندلیچ در جدول ۴ ارائه شده است. گرچه داده‌های جذب نیکل به خوبی در هر دو مدل لانگ مویر و فروندلیچ برازش یافته‌اند، لیکن همدمای فروندلیچ قادر به توصیف بهتر فرآیند جذب نیکل بوده است.

بحث

تشکیل بیوفیلم یک مکانیسم سازگاری است که مقاومت باکتری‌ها را در مقابل عوامل نامساعد محیطی در مقایسه با سلول‌های پلانکتونیک به میزان قابل توجهی افزایش می‌دهد. از جمله عوامل نامساعد محیطی، حضور فلزات سنگین در محیط رشد باکتری‌هاست، بطوریکه حضور نیکل در محیط به عنوان فلزی سمی و خطرناک منجر به تحریک ترشح پلی‌ساکاریدهای برون سلولی توسط باکتری گردیده، مقاومت و سازگاری آن را افزایش می‌دهد. بطوریکه نتایج بررسی MTC در جدایه *سودوموناس آئروژینوزا*، حاکی از توان بالای این

حضور و عدم حضور بیوفیلم باکتری اشیریشیا کلی گزارش نمودند هنگامیکه از ژئولیت با بیوفیلم باکتری استفاده می گردد نتایج بهتری از جذب دیده می شود که تأیید کننده نقش مهم بیوفیلم در فرآیند جذب بیولوژیکی است.^{۱۳}

بررسی و مقایسه تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی کلینوپتیلولایت-بیوفیلم و کلینوپتیلولایت اصلاح نشده، حاکی از پوشش ذرات کلینوپتیلولایت به وسیله پلی ساکاریدهای برون سلولی باکتری سودوموناس آئروژینوزا در شرایط حضور نیکل در محیط رشد باکتری بوده است. تجمع و انعقاد ذرات کلینوپتیلولایت در حضور نیکل، احتمالاً به دلیل افزایش ترشح پلی ساکارید های برون سلولی باکتری سودوموناس آئروژینوزا برای سازگاری بیشتر با حضور این عامل تنش زا در محیط بوده است. ملکی و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی جذب کادمیوم و کوئینتالاس و تاواریس (۲۰۰۱) به منظور پاکسازی کروم، کادمیوم، سرب و آهن توسط بیوفیلم استقرار یافته باکتری اشیریشیا کلی بر روی ژئولایت، استقرار جمعیت باکتری ها در قالب پوشش بیوفیلم در سطح کلینوپتیلولایت را گزارش نموده اند.^{۱۳-۱۸} همچنین سیلوا و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی امکان جذب کروم (VI) توسط ژئولایت پوشش یافته با بیوفیلم باکتری آرتروباکتر ویسکوزوس، علاوه بر تأیید استقرار جمعیت باکتری ها در قالب پوشش بیوفیلم در سطح ژئولایت از طریق بررسی تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی، گزارش نموده اند که پس از اتصال کروم (VI) در شکل و اندازه ژئولایت پوشش یافته با بیوفیلم تغییری حاصل نشده است که با نتایج به دست آمده از این تحقیق مشابه است.^{۳۳}

در فرآیند جذب، غلظت اولیه یون های ماده جذب شونده در محلول نقش کلیدی به عنوان نیروی محرک (Driving force) برای غلبه بر مقاومت انتقال جرم بین فاز مایع و فاز جامد را داراست.^{۳۰} اهش اولیه راندمان پاکسازی نیکل با افزایش غلظت این فلز در محیط واکنش در تحقیق حاضر،

باکتری سودوموناس آئروژینوزا اشاره نموده اند.^{۳۷} در تحقیقی مشابه، جاسمین و همکاران (۲۰۱۲)، به مقاومت چندگانه به فلزات نقره، روی و مس اشاره نموده و حداکثر غلظت قابل تحمل این فلزات توسط باکتری سودوموناس آئروژینوزا را به ترتیب ۱۵۰۰، ۱۲۰۰ و ۲۱۰۰ میلی گرم در لیتر گزارش نموده اند.^{۲۸}

تیزل و همکاران (۲۰۰۳) در پژوهش خود پیرامون بررسی مقاومت فلزی باکتری سودوموناس آئروژینوزا در دو حالت پلانکتونیک و بیوفیلم، گزارش نموده اند که مقاومت این باکتری به فلزات مس، روی و نیکل در حالت بیوفیلم، ۲ تا ۶۰۰ برابر مقاومت این باکتری در حالت پلانکتونیک است.^{۲۹}

مطالعات اخیر نشان می دهد، هنگامی که بیوفیلم بر روی تکیه گاه ژئولایت استقرار می یابد نتایج بهتری از جذب دیده می شود که تأیید کننده نقش مهم بیوفیلم در فرآیند جذب بیولوژیکی است. بیوفیلم غلظت بالایی از بیومس در واحد حجم تأمین می کند، بنابراین باکتری می تواند برای مدت نامحدودی در داخل محیط باقی مانده و ضمن تعدیل خود با شرایط محیطی، با برهم کنش های الکترواستاتیکی بین یون های فلزی و پلیمر های خارج سلولی توسعه و افزایش یابد. نتایج حاصل از این تحقیق که با راندمان پاکسازی ۹۹/۴۷٪ نیکل توسط بیوفیلم استقرار یافته بر روی کلینوپتیلولایت همراه بود، نشان داد که استفاده از باکتری ها در قالب پوشش بیوفیلم، چنانچه بر روی یک سطح استقرار یابند، می توانند نقش مؤثر و معنی داری در افزایش قدرت جذب نیکل توسط بیوفیلم ایفا نماید. عطاآبادی و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه خود گزارش نمودند که حضور کروم (VI) در محیط به عنوان فلزی سمی و خطرناک منجر به تحریک ترشح پلی ساکارید های برون سلولی توسط باکتری سودوموناس آئروژینوزا گردیده، سازگاری و مقاومت آن را افزایش می دهد و نقش مؤثری در احیای کرومات دارد.^{۲۱} ملکی و همکاران (۲۰۱۳) نیز در مقایسه جذب یونهای کادمیم توسط ژئولیت در شرایط

دلیل از دست دادن پروتون توسط گروه های عامل موجود در ساختار بیوفیلیم و توسعه بار منفی در سطح آن است که با ایجاد نیروی جاذبه الکتروستاتیک با کاتیون نیکل، به طور پیش رونده ای باعث افزایش جذب بیولوژیکی نیکل تا زمانی که سایت های جذب اشباع شوند، می گردد. در این خصوص کامت و همکاران اظهار نموده اند که شکل بدون پروتون سایت های فعال جذب که اساسا گروه های کربوکسیل، فسفریک و آمینو هستند، عمدتا مسئول اتصال یون های فلزی بر روی EPS هستند.^{۱۱} مطالعات نشان می دهد که در pH های بالاتر از ۹، برخی از کاتیون های فلزی مانند نیکل به صورت هیدروکسید نیکل رسوب خواهد نمود و در pH های کمتر از ۶ جذب بیولوژیکی می تواند به دلیل رقابت بین یون نیکل و یون هیدروژن برای سایت های جذب موجود بر سطح سلول میکروبی، کاهش یابد. مضاف بر اینکه اکثر گروه های کربوکسیل موجود بر روی سطح سلولهای باکتری امکان یونیزه شدن نداشته و بصورت غیر یونی باقی مانده و لذا قادر به جذب فلز از محیط مایع نیستند.^۹

میزان مصرفی بستر یا تکیه گاه یکی از مهم ترین پارامترها در فرآیند جذب بیولوژیکی توسط بیوفیلیم است، زیرا می تواند بر قدرت اتصال باکتری و نگهداری آن در قالب پوشش بیوفیلیم اثر بگذارد. افزایش اندک راندمان پاکسازی نیکل در ازای افزایش مقدار مصرفی بستر به بیش از ۱ گرم در لیتر، احتمالا به واسطه استقرار بهتر باکتری ها در قالب ساختار بیوفیلیم و متعاقبا افزایش تعداد جایگاههای فعال قابل دسترس برای جذب نیکل توسط گروه های عامل موجود در ساختار بیوفیلیم بوده است. در مطالعه ای مربوط به جذب یون نیکل و مس، اسماعیلی و همکاران (۲۰۰۹) به نتایج مشابهی دست یافته اند.^{۳۷} عطاآبادی (۲۰۱۴) در مطالعه خود پیرامون جذب کروم (VI) توسط بیوفیلیم استقرار یافته باکتری *Sordomonas آرتروزیوزا* بر روی کلینوپتیلولایت، افزایش راندمان پاکسازی به ازای افزایش مقدار کلینوپتیلولایت مصرفی را گزارش نموده

احتمالا به دلیل پرشدن جایگاههای جذب خالی و کاهش شیب غلظت نیکل به سمت جاذب است. هورسفال و همکاران (۲۰۰۶) گزارش نموده اند که در غلظت های بالاتر، کاهش فاصله بین گونه های جذب شونده در سطح جاذب، توزیع بار در سطح بیوفیلیم را تحت تاثیر قرار داده و توانایی گونه ها برای مهاجرت به سطح توده زیستی را تغییر می دهد و این پدیده می تواند از دلایل احتمالی کاهش جذب باشد.^{۳۱} در مطالعه قربانی و یونسی (۲۰۰۸) گزارش شده است که با افزایش غلظت اولیه، تعداد یون های در حال رقابت برای واکنش با گروه های فعال سطح جاذب بیشتر می شود و در نتیجه مکان های فعال جاذب اشباع می گردد.^{۳۲} حیدری و همکاران (۲۰۱۱) در خصوص حذف مخلوط یون های فلزی سرب، نیکل و کادمیوم از محلول های آبی با استفاده از جاذب نانو حفره MCM-41 اصلاح شده به نتایج مشابهی دست یافته اند.^{۳۳} همچنین در مطالعه مرنندی و امیر افشار (۲۰۰۹) پیرامون جذب بیولوژیکی سرب و روی به وسیله بیومس غیر زنده و صدیقی و همکاران (۲۰۱۱) در تحقیق برآورد تأثیر پارامترهای مهم در جذب بیولوژیکی مس و منگنز توسط باکتری *باسیلوس تورنجینسیس* و آسمان رفعت و همکاران (۲۰۱۴) در تحقیق پیرامون بررسی اثر غلظت محلول و اندازه ذرات زئولایت بر جذب نیکل، کادمیوم و سرب از محلول آبی، نتایج مشابهی ارائه شده است.^{۳۴-۳۵-۳۶}

pH یکی از پارامترهای بسیار مهم در پاکسازی گونه های فلزی در قالب فرآیندهای جذب زیستی به شمار می آید. زیرا pH محلول، رفتار گونه های فلزی را به واسطه نقشی که در امکان اتصال آنها به آگزوپلی ساکاریدها دارد، تحت تاثیر قرار می دهد. در حقیقت بار گروه های عامل موجود در آگزوپلی ساکاریدها، به واسطه عمل پروتون گیری و پروتون زدایی تغییر یافته و از این جهت، جذب و دفع گونه های فلزی را تحت تاثیر قرار می دهد.^{۳۳} افزایش راندمان پاکسازی نیکل به واسطه افزایش pH محیط در این مطالعه به

است.^{۳۸}

یافته با بیوفیلم در پژوهش روزالس و همکاران (۲۰۱۲)، حاکی از برآزش بهتر داده های جذب در مدل همدمای فروندلیچ ($R^2=0.973$) بوده است. این محققین تشریح نموده اند که کوچکتر بودن ضریب فروندلیچ ($1/n$) از عدد یک نه تنها حاکی از جذب مطلوب کروم (VI) توسط کلینوپتیلولایت پوشش یافته با بیوفیلم بوده، بلکه نشان دهنده توزیع یکنواخت جایگاه های جذب در سطح جاذب یا به عبارت دیگر کاهش خطی برهمکنش موجود بین جاذب و کروم (VI) با افزایش چگالی سطحی بوده است.^{۴۲}

نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که بهره گیری از گنجایش جذبی بیوفیلم باکتری سودوموناس آئروژینوزا برای پاکسازی فلزات از محیط های آبی در صورت کاربرد یک بستر نگهدارنده مناسب چون کلینوپتیلولایت و بهینه سازی عوامل موثر بر راندمان پاکسازی، از کارآیی مناسبی برخوردار است و می تواند راهکاری مناسب برای مدیریت هوشمندانه بیوفیلم باکتری ها در تاسیسات تصفیه پساب باشد.

کاهش آرام و تدریجی راندمان پاکسازی با افزایش دمای محیط واکنش در این تحقیق حاکی از گرمازا بودن فرآیند جذب نیکل توسط بیوفیلم است. افزایش دما ممکن است نیروهای جذبی بین گونه های آنالیت و مکان های فعال روی سطح جاذب را کاهش داده و سبب کاهش ظرفیت جذب شود.^{۳۹} زوار موسوی و لطفی (۲۰۱۳) در مطالعه خود در خصوص حذف نیکل و کادمیوم از محلول های آبی توسط نانو ذرات مغناطیسی اصلاح شده به نتایجی مشابه دست یافته اند.^{۳۹} منشوری و همکاران (۲۰۱۴) نیز در تحقیق خود گزارش نموده اند که راندمان پاکسازی سرب توسط پر شتر مرغ اصلاح شده با پراکسید هیدروژن با افزایش دما تا ۴۰ درجه سانتیگراد، کاهش یافته است.^{۴۰} دلارزا (۲۰۰۸) در بررسی اثر دما بر جذب زیستی سرب به نتایج مشابهی دست یافته است.^{۴۱}

برآزش بهتر داده های نیکل توسط بیوفیلم استقرار یافته بر روی کلینوپتیلولایت در مدل همدمای فروندلیچ ($R^2=0.9$)، حاکی از وابستگی فرآیند جذب به شرایط پوشش سطح جاذب بوده است و ضریب n معادل $2/159$ در این مدل، نشان دهنده جذب مناسب این فلز بر روی جاذب است. مطالعه همدمای جذب کروم (VI) توسط کلینوپتیلولایت پوشش

References

1. Akhondi A, Khodadadi Darban A, Ganjidoust H. The Effectiveness of Electrocoagulation process for the Removal of Cadmium from Water. J Water Wastewater 2013; 2: 86-93[In Persian].
2. Dermentzis K, Christoforidis A, and Valsamidou E. Removal of nickel, copper, zinc and chromium from synthetic and industrial wastewater by electrocoagulation. J Environ Sci 2011; 1(5): 112-119.
3. El.Bestayy E, Abu Rass M, Abdel-Kawi MA. Removal of lead and oil hydrocarbon from oil refining-contaminated wastewater using *Pseudomonas* spp. J Nat Sci Res 2013; 3(11): 112-124.
4. Maleki A, Khadem Erfan MB, Mohammadi AS, Ebrahimi R. Application of commercial powdered activated carbon for adsorption of carbolic acid in aqueous solution. Pak J Bio Sci 2007; 10(14): 2348-2352.
5. Quintelas C, Fernades B, Castro J et al. Biosorption of Cr (VI) by a *Bacillus coagulans* biofilm supported on granular activated carbon (GAC). Chem Eng J 2008; 136(2-3): 195-203.
6. Lameiras S, Quintelas C, Tavares T. Biosorption of Cr (VI) using a bacterial biofilm supported on granular activated carbon and on zeolite. J Bioresour Technol 2008; 99(4): 801-806.
7. Harrison JJ, Ceri H, Turner RJ. Multimetal resistance and tolerance in microbial biofilms. Nat Rev Microbiol 2007; 5(12): 928-938.
8. Malik A. Metal bioremediation through growing cells. Environ Int 2004; 30(2): 261-278.
9. Quintelas C, Rocha Z, Silva B et al. Biosorptive performance of an *Escherichia coli* biofilm supported on

- zeolite NaY for the removal of Cr (VI), Cd (II), Fe (III) and Ni(II). Chem Eng J 2009; 152(1): 110-115.
10. Mangwani N, Shukla SK, Rao TS, Das S. Calcium-mediated modulation of *Pseudomonas mendocina* NR802 biofilm influences the phenanthrene degradation. Colloids Surf B Biointerfaces 2014; 114(1): 301-309.
 11. Comte S, Guibaud G, Baudu M. Biosorption properties of extracellular polymeric substances (EPS) towards Cd, Cu, and Pb for different pH values. J Hazard Mater 2008; 151(1): 185-193.
 12. Eboigbodin KE, Biggs CA. Characterization of the extracellular polymeric substances produced by *Escherichia coli* using infrared spectroscopic, proteomic, and aggregation studies. Biomacromolecules 2008; 9(2): 686-695.
 13. Maleki A, Mahvi AH, Rezaei R, Sherzadsepini M. Cadmium adsorption by a bacterial biofilm supported on clinoptilolite from aqueous solution. Scientific J Kurdistan Univ Med Sci 2013; 16: 65-75. [In Persian].
 14. Kocaoba S, Orhan Y, Akyüz T. Kinetics and equilibrium studies of heavy metal ions removal by use of natural zeolite. Desalination 2007; 214(1-3): 1-10.
 15. AnsariMahabadi A, Hajabbasi MA, Khademi H, Kazemian H. Soil cadmium stabilization using an Iranian natural zeolite. Geoderma 2007; 137: 388-393 [In Persian].
 16. Mohammadi Sani M, Astarai A, Fotovat A, Lakziyan A. Inactivation of Lead and Zinc in Mine Waste using Zeolite and TSP and its effect on wheat growth. Iran. J Field Crops Res 2011; 8(6): 956-964 [In Persian].
 17. Movahedian Atar H, Ebrahimi A. Evaluation of natural zeolite and artificial Resins the removal of nickel, zinc and copper from industrial wastewater. J Res Med Sci 2002; 8(4): 75-80 [In Persian].
 18. Quintelas C, Tavares T. Removal of chromium (VI) and cadmium (II) from aqueous solution by a bacterial biofilm supported on granular activated carbon. Biotechnol Lett 2001; 23(16): 1349-1353.
 19. Kang SY, Bremer PJ, Kim KW, McQuillan AJ. Monitoring metal ion binding in single layer *Pseudomonas aeruginosa* biofilm using ATR-IR spectroscopy. Langmuir 2006; 22(1): 286-291.
 20. Yolmeh M, Habibi Najafi MB, Farhoosh R, Hosseini F. Application of response surface methodology to optimize Ultrasound-assisted extraction conditions of dye from annatto seeds. J Food Sci Technol. 2016; 13(50): 41-51.
 21. Ataabadi M, Tahmourespour A, Hoodaji M, et al. The role of exopolysaccharides from a chromate reducing *Pseudomonas aeruginosa* in resistance to hexavalent chromium and antibiotics. J Shahrekord Univ Med Sci 2014; 16(4): 28-38 [In Persian]
 22. Amoozegar MA, Ghazanfari N, Didari M. Lead and cadmium bioremoval by *Halomonas* sp., an exopolysaccharide-producing halophilic bacterium. J Environ Sci Technol 2012; 11(4): 479-491.
 23. Silva B, Figueiredo H, Quintelas C, et al. Zeolites as supports for the biorecovery of hexavalent and trivalent chromium. Microporous Mesoporous Mater 2008; 116(1-3): 555-560.
 24. Yegane badi M, Esrafil A, Rezaei Kalantary R, et al. Removal of Diethyl phthalate from Aqueous Solution Using Persulfate-based (UV / Na₂S₂O₈ / Fe²⁺) Advanced Oxidation Process. J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(132): 122-135 [in Persian].
 25. Marzan LW, Hossain M, Mina SA, et al. Isolation and biochemical characterization of heavy-metal resistant bacteria from tannery effluent in Chittagong city, Bangladesh: Bioremediation viewpoint. Egyptian J Aqua Res 2017; 43(1):65-74.
 26. Mohammadzadeh Karkaragh R, Chorom M, Motamedi H, Mohabat A. Biosorption and bioaccumulation of Cd and Ni in competitive solution by three bacteria isolated from polluted soils to sewage sludge. J Microbial World 2014; 7(3): 241-251 [In Persian].
 27. Raja CE, Anbazhagan K, Selvam GS. Isolation and characterization of a metal-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain. World J Microbiol Biotechnol 2006; 22(2): 577-585.
 28. Jasmine R, Venkadesan B, Ragul K. Identification and characterization of heavy metal-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and its potential for bioremediation. Am J Pharma Tech Res 2012; 22(4): 1-6.
 29. Teitzel GM, Parsek MR. Heavy metal resistance of biofilm planktonic *Pseudomonas aeruginosa*. Appl Environ Microbiol 2003; 69(4): 2313-2320.
 30. Wan Ngah W S, Hanafiah MAKM. Adsorption of copper on rubber (*Hevea brasiliensis*) leaf powder: Kinetic, equilibrium and thermodynamic studies. Biochem Eng J 2008; 39(3): 521-530.
 31. Horsfal Jr M, Ogban F, Akporhonor EE. Sorption of chromium (VI) from aqueous solution by cassava (*Manihot esculenta* Cranz.) waste biomass. Chem Biodivers 2006; 3(2): 161-173.
 32. Ghorbani F, Younesi H. Biosorption of cadmium (II) ions by *Saccharomyces cerevisiae* biomass from aqueous solutions. J Water Wastewater 2008; 68, 33-39 [In Persian]
 33. Heydari A, Younesi H, Mehraban Z. Removal of Cd, Ni and Pb from aqueous solutions using NH₂-MCM-41 adsorbent. Water Wastewater 2011; 21(1): 25-33 [In Persian]
 34. Marandi R, Doulati Ardejani F, Amir afshar H. Biosorption lead(II) and zinc(II) by pre-treated biomass of *Phanerochaete chrysosporium*. Int J Mining Environ

- Issues 2010; 1(1): 196-207
35. Sedighi M, KHosravi V, Rahdani A. Estimating the impact of important parameters on biosorption of Cu and Mn ions by *Bacillus Thuringiensis*. *New Cell Mol Biotechnol J* 2011; 2(8): 45-51. [In Persian]
36. Asman Rafat M, Tabatabaei H, Noshadi M, Beagi Harghegani H. Liquid phase adsorption of Ni, Cd and Pb on zeolite as affected by zeolite size and concentration of solution. *J Water Soil Sci* 2014; 18(68): 23-30 [In Persian].
37. Esmaeili A, Ghasemi S. Evaluation of the marine algae *Gracilaria* and its activated carbon for the adsorption of Ni(II) from wastewater. *World Appl Sci J* 2009; 6 (4): 515-18.
38. Ataabadi M. 2014. Investigation of chromate absorption on surface modified zeolite with iron nanoparticles and bacterial biofilm. Doctoral thesis of Soil Sciences Department of Islamic Azad University, Isfahan (Khorasgan) Branch.
39. Zavarmosavi H, Lotfi Z. Removal of Nickel and Cadmium from Aqueous Solution by Modified Magnetic Nanoparticles. *J Water Wastewater* 2013; 1: 2-11. [In Persian]
40. Manshori M, Yazdanbakhsh A, Daraei H, Norisepehr M. Lead removal from aqueous solution using ostrich feathers modified by hydrogen peroxide. *J Hormozgan Univ Med Sci* 2014; 17(4): 307-315 [In Persian]
41. De la Rosa G, Reynel-Avila HE, Bonilla A, et al. Recycling poultry feathers for Pb removal from wastewater: Kinetic and equilibrium studies. *Int J Chem Mol Eng* 2008; 47: 394-402.
42. Rosales E, Pazos M, Sanroman MA, Tavares T. Application of zeolite-*Arthrobacter viscosus* system for the removal of heavy metal and dye: Chromium and Azure B. *Desalination*. 2012; 284:150-156.