

Microorganisms in the Removal of Heavy Metals from Industrial Effluents

Abbas Farazmand

MSc., Iranian Research Organization for Science and Technology, Isfahan

Abstract

Microorganisms immobilize metal ions by both active and passive processes. For example, bacteria that use sulfate as a terminal electron acceptor actively produce and excrete an ion sulfide - that forms an insoluble complex with metal ions present in solution, causing these ions to precipitate. In contrast, biosorption (strong binding of metal ions to bacterial cells and to polymeric substances secreted by the cells) is a passive process seen with both living and dead cells. In biotransformation, some heavy metals such as uranium, chromium and mercury are reduced by microorganisms.

نقش و کاربرد میکرووارگانیسم‌ها در حذف فلزات سمی از پساب‌های صنعتی

عباس فرازمند*

چکیده

با استفاده از روش‌های مختلف بیولوژیکی می‌توان انواع پساب‌های حاوی فلزات سمی را تصفیه کرد. روش جذب، رسوب‌دهی و تغییر و تبدیل به طریق زیستی مهترین ساز و کار مورد استفاده در تصفیه فلزات سمی است. در روش جذب به طریق زیستی فلزاتی نظری سرب، کادمیوم، روی و اورانیوم به مکان‌های خاصی از سلول و یا مواد پلیمری مترسخه از آنها متصل می‌شوند. در روش رسوب‌دهی به طریق زیستی یون‌های فلزات دو ظرفیتی مانند سرب، جیوه، کادمیوم و روی با یون‌های سولفید حاصل از فعالیت باکتری‌های احیاکننده سولفات رسوب‌های غیر محلول تشکیل می‌دهند. تغییر شکل فلزات به طریق زیستی شامل احیای اورانیوم (VI) به اورانیوم (IV)، احیای کروم (VI) به کروم (III)، احیای جیوه (II) به جیوه (0) و اکسیداسیون ارسنیک (III) به ارسنیک (V) می‌باشد. در این مقاله انواع روش‌های بیولوژیکی مورد استفاده در تصفیه فاضلاب‌های صنعتی و ساز و کار آنها به تفصیل مورد بررسی قرار می‌گیرند.

مقدمه

و عناصر پرتوزای حاصل از محیط‌های طبیعی به وسیله فعالیت میکروارگانیسم‌ها صورت می‌گیرد. از این موجودات می‌توان جهت حذف پسماندهای فلزات سنگین قبل از ورود آنها به محیط زیست استفاده کرد. میکروارگانیسم‌ها از هر دو فرایند فعال و غیرفعال، یون‌های فلزات را ثابت می‌کنند. برای مثال باکتری‌هایی که از سولفات به عنوان پذیرندهٔ نهایی الکترون استفاده می‌کنند به طور فعال یون‌های سولفید تولید و ترشح می‌کنند و این یون‌ها باعث تشکیل کمپلکس‌های غیر محلول با

با پیشرفت صنعت و فن آوری، آلودگی محیط زیست نیز رو به افزایش است. پساب‌های آلوده به مواد سمی و فلزات سنگین (حتی در حد مجاز) از قبیل جیوه، کادمیوم، اورانیوم، ارسنیک و سرب وقتی وارد محیط زیست شوند می‌توانند تحت تأثیر عوامل مختلف فیزیکی، شیمیایی و میکروبی تغییر شده و آب‌های سطحی و زیرزمینی را آلوده و اثرات جبران‌ناپذیری بر محیط زیست وارد کنند. از این رو ضرورت مطالعه راه‌های رفع آلاینده‌های پیچیده آب، خاک و هوای شدیداً احساس می‌شود. فرایندهای مهم حذف، تثبیت یا سمزدایی بیشتر فلزات سنگین

* عضو هیات علمی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران - پژوهشکده اصفهان

یون‌های فلز موجود در محلول می‌شود. در مقابل، جذب به طرق زیستی^۱ (اتصال محکم یون‌های فلزی به سلول‌های باکتری و مواد پلیمری متراشحه از این سلول‌ها) یک فرایند غیرفعال است که هم در سلول‌های زنده و هم در سلول‌های غیرزنده دیده می‌شود. به توده سلول‌های مورد استفاده در جذب فلزات، مواد جاذب زیستی^۲ گفته می‌شود. امروزه استفاده از مواد جاذب زیستی به طور گسترده‌ای در صنعت تصفیه و بازیابی فلزات سنگین و سمی و به طور کلی در چاره‌جوابی‌های زیستی^۳ عوامل سمی استفاده می‌شود. فرایندهای تصفیه بیولوژیکی در مورد برخی از فلزات سمی به مرحله نیمه صنعتی و صنعتی رسیده است.

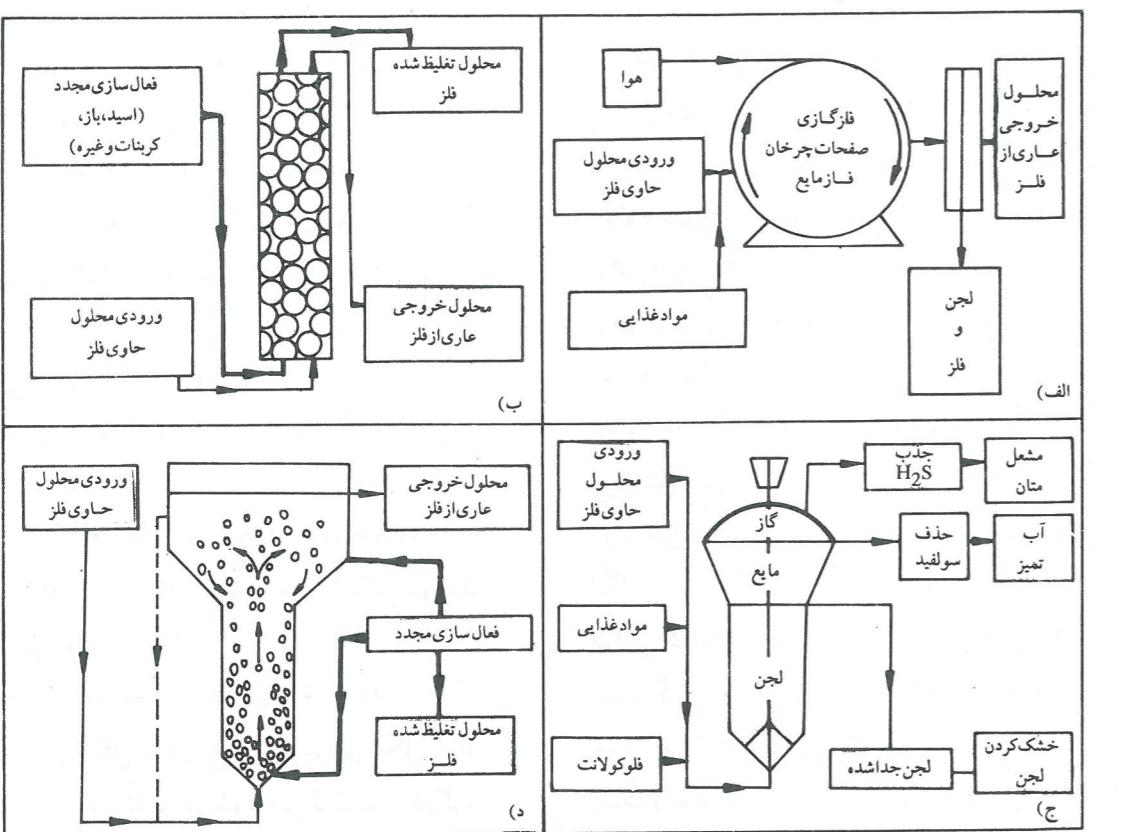
روش‌های متداول جداسازی عناصر پرتوزا و فلزات سمی در غلطات‌های بیش از 100 mg/l عبارتند از: فرایندهای رسوب‌دهی، واکنش‌های اکسیداسیون - احیاء، تبادل یونی و تصفیه فیزیکی با استفاده از صافی‌ها. فرایند تصفیه امروزه با استفاده از میکروارگانیسم‌ها حتی در غلطات‌های بسیار پایین به خوبی صورت می‌گیرد [۱].

مزایای استفاده از مواد جاذب زیستی

حجم‌های یکسانی از مواد جاذب زیستی که از توده سلول میکروارگانیسم‌ها تشکیل یافته‌اند در مقایسه با رزین‌های مصنوعی تبادل یونی از ظرفیت جذب تقریباً مشابهی برخوردار هستند. مواد جاذب زیستی می‌توانند غلطات‌های زیاد فلزات قلیایی خاکی (Mg^{2+} , Ca^{2+}) و غلطات‌های پایین کاتیونهای فلزات سنگین (نظیر Zn^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Ra^{2+}) را به طور کارآمدی جذب نمایند. یکی دیگر از مزایای استفاده از میکروارگانیسم‌ها تولید ارزان قیمت آنها در مقایسه با رزین‌های تبادل یونی است. فلزات جذب شده بر روی میکروارگانیسم‌ها را می‌توان با استفاده از محلول‌های شستشو دهنده مناسب بازیابی کرد [۲ و ۳].

اتصال یون‌های فلزی به مواد جاذب زیستی ناشی از وجود بارهای منفی (کربوکسیلات، فسفات) بر روی دیواره سلولی و پلیمرهای خارج سلولی میکروارگانیسم است. علاوه بر

مکانیسم‌های تبادل یونی، مواد جاذب زیستی از طریق تشکیل کمپلکس در مکان‌های بدون بار باعث ایجاد رسوب فلز می‌گردند.



شکل ۱- طرح‌های ساده‌ای از برخی فرایندهای بیوتکنولوژی که اخیراً برای زدودن فلزات سمی از پساب‌ها به کار گرفته شده است؛ (الف) راکتور دارای صفحات چرخان، (ب) راکتور دارای پستر ثابت، (ج) بیوراکتور مملو از لجن و (د) راکتور دارای بستر شناور

است که به طور طبیعی در رسوبات دریاها صورت می‌گیرد. در آب دریا، کلراید فراوان‌ترین آئیون است و بعد از آن سولفات‌های قرار دارد. اکسیژن و سولفات‌های متمدن پذیرنده‌های الکترون می‌باشند. در حالتی که آب دریا کاملاً اشباع از هوا باشد، غلظت سولفات (SO_4^{2-}) صد برابر غلظت اکسیژن است. به علاوه قدرت نفوذ سولفات در عمق رسوبات بیش از صد برابر اکسیژن است. در چنین رسوباتی که در آن شرایط به صورت بی‌هوایی است و از سولفات‌های غنی می‌باشد، باکتری‌های احیا کننده سولفات^۲ مثل *D. sulfurovum* کلوم^۳ و *D. desulfuricans*^۴ مرحله

انبوه آن، توده سلول‌ها با استفاده از مواد تثیت کننده مناسب تثیت می‌شوند. سپس با قراردادن دانه‌های تثیت شده در ستون مورد نظر تصفیه صورت می‌گیرد. در شکل ۱ برخی از راکتورهای مورد استفاده در جذب فلزات نشان داده شده است [۵، ۴، ۳].

رسوب‌دهی سولفیدهای فلزات

دریاچه‌ها و مرداب‌های مصنوعی و زمین‌های مرطوب که با مواد غذایی مناسب غنی‌سازی شده‌اند می‌توانند به عنوان فیلترهای بیولوژیکی^۱ برای فلزات سنگین موجود در پساب‌های اسیدی معادن عمل نمایند. این فرایند مشابه فرایندهای

منشاء میکروارگانیسم‌های صنعتی

نکته مهم در مورد مواد جاذب زیستی ویژگی سویه‌ای میکروارگانیسم‌ها است. برای مثال تاکنون گزارش‌های متنوعی از جذب یون‌های فلزی توسط مخمر ساکارومیس سروزیا^۴ صورت گرفته است که هر کدام رصد جذب خاصی را گزارش کرده‌اند. محققین برای یافتن سویه‌های صنعتی میکروارگانیسم‌های جاذب فلزات سنگین، میکروارگانیسم‌های

ماقاوم به این فلزات را جستجو می‌کنند. برای جستجوی این میکروارگانیسم‌ها می‌توان از پساب‌های کارخانه‌های صنعتی مثل باطری‌سازی، آبکاری و ... استفاده کرد. با کشت نمونه‌های مختلف بر روی محیط کشت آگاردار حاوی فزات سنگین (مثلاً یک میلی مول Pb^{2+} یا Cd^{2+} یا Zn^{2+}) می‌توان به راحتی این میکروارگانیسم را جداسازی کرد و در مورد هر میکروارگانیسم به طور مجزا توانایی جذب و تجمع بیولوژیکی^۵ فلزات را بررسی کرد. از دیگر خصوصیات میکروارگانیسم‌های صنعتی کشت آنها با استفاده از ساده‌ترین منابع غذایی است. میکروارگانیسم‌های صنعتی نایستی از گروه میکروب‌های بیماری‌زا و یا فرست طلب باشند. در میان میکروارگانیسم‌های مختلف صنعتی که از قدرت جذب خوبی برخوردار هستند می‌توان به این گونه‌ها اشاره کرد. در میان

باکتری‌ها *Bacillus*^۶ و *Zooglea Ramigera*^۷ و *Pseudomonas MGF-48*^۸ در میان مخمرها ساکارومیس سروزیا، در میان فارجهای رشته‌ای *Rhizopus arrhizus*^۹ و *Aspergillus Niger*^{۱۰} در میان جلبک‌ها *Chlorella regularis*^{۱۱} از کارایی خوبی در جذب فلزات برخوردار هستند. پس از انتخاب سویه مناسب و کشت

- | | |
|-------------------------|-----------------------------|
| 1- Biosorption | 2- Biosorbents |
| 3- Bioremediation | 4- Saccharomyces Cerevisiae |
| 5- Bioaccumulation | 6- Bacillus |
| 7- Zooglea Ramigera | 8- Pseudomonos MGF - 48 |
| 9- Rhizopus Arrhizus | 10- Aspergillus Niger |
| 11- Chlorella Regularis | |

یکی از مثال‌های دیگر تغییر شکل فلزات به طریق زیستی احیا کروم (VI) به کروم (III) توسط میکروارگانیسم‌های احیا کننده کرومات است. مکانیسم مقاومت میکروارگانیسم‌های احیا کننده کرومات و مکانیسم احیا کرومات دو سیستم مجزا از یکدیگر است. انتروباکتر کلوس آ-۵ یکی از مهم‌ترین باکتری‌های شناخته شده احیا کننده کرومات (CrO_4^{2-}) است که می‌تواند کرومات را در شرایط بی‌هوایی و از طریق تنفس بی‌هوایی احیا کرده و هیدروکسید کروم تولید نماید.^[۳]

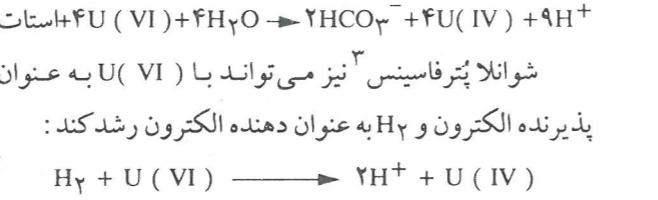
تصفیه پساب‌های ارسنیک دار با استفاده از باکتری‌های مولد اکسید از (که ارسنیک (III) متداول را به ارسنیک (V) کاتالیز می‌کنند) می‌تواند روش‌های تصفیه ارسنیک را بهبود بخشد، چراکه ارسنات (ارسنیک ۵ طرفی) نسبت به ارسنیک سه‌طرفی به آسانی از طریق ترکیب با آهن از پساب‌ها حذف می‌شود. امروزه محققین در جستجوی میکروارگانیسم‌های احیا کننده ارسنیک (III) یا (V) به ارسنیک (0) می‌باشند. کشف این گروه از میکروارگانیسم‌ها در تصفیه پساب‌های حاوی ارسنیک، مفید خواهد بود.^[۳]

آخرین مثال از تغییر شکل فلز به طریق زیستی احیا و تبخر جیوه است. میکروارگانیسم‌ها از طریق مکانیسم‌های مختلفی باعث حذف جیوه از پساب‌ها می‌شوند که می‌توان به تبخر به شکل دی‌متیل مرکوری و تبخر به شکل جیوه فلزی اشاره کرد. بسیاری از میکروارگانیسم‌ها از طریق متیله کردن جیوه، خود را از اثرات سمه آن حفظ می‌کنند. اما ترکیبات الکل مرکوری برای موجودات عالی بسیار سمه و خطرناک است. حادثه شیوع بیماری در ساکنان شهر میناماتا^۶ ژاپن در سال ۱۹۵۳ که با ضعف عضلاتی، از بین رفتن بینایی، آسیب‌های مغزی، فلج احتمالی و حتی در برخی با اغما و مرگ همراه بود، ناشی از مصرف ماهی‌های حاوی مقادیر زیاد متیل مرکوری بود. برای جیوه معلوم شد که منشأ آن پساب یک کارخانه می‌باشد. باکتری‌های بی‌هوایی موجود در رسویات باعث تبدیل جیوه به مشتقات

سلول) می‌تواند ۹ گرم اورانیوم را به صورت H_2PO_4^- رسبود دهد. با این حال این روش برای رسبود دهی سایر فلزات مقترون به صرفه نیست.^[۶]

تغییر شکل فلزات به طریق زیستی

تغییر شکل فلزات به طریق زیستی^۱ شامل احیا و یا اکسیداسیون برخی از فلزات سمه است. برای مثال برخی از باکتری‌های بی‌هوایی می‌توانند از طریق واکنش‌های آنزیمی اورانیوم (VI) محلول را به شکل اورانیوم (IV) غیر محلول احیا نمایند. ژئوباکتر متالیردیوسنس^۲ اولین ارگانیسمی بود که مشخص گردید می‌تواند از اورانیوم (VI) به عنوان پذیرنده نهایی الکترون استفاده نماید. این باکتری از طریق انجام واکنش زیر رشد می‌کند:



هر دو ارگانیسم فوق که از میکروارگانیسم‌های احیا کننده آهن محسوب می‌شوند می‌توانند در غلظت‌های زیاد اورانیوم (8 mM) رشد کنند. تعدادی از میکروارگانیسم‌های احیا کننده سولفات‌ناظیر دی‌سولفوویریو دی‌سولفورکانس^۴ نیز می‌توانند به وسیله آنزیم اورانیوم (VI) (UO_2^{2+}) را با H_2 یا لاکتات احیا کنند. احیای میکروبی اورانیوم (VI) مزایای متعددی نسبت به روش‌های دیگر تصفیه دارد که عبارتنداز:

۱) توانایی رسبود دهی اورانیوم از کمپلکس کربنات اورانیوم (VI).

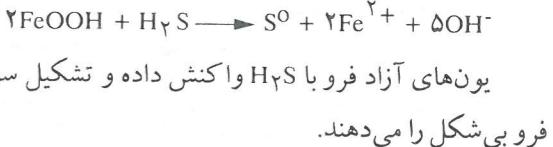
۲) بازیابی اورانیوم به شکل بسیار تغليظ شده و خالص به صورت اورانیت (UO_2).

۳) جداسازی مقادیر زیادی از اورانیوم بر حسب مقدار توده سلول.

۴) توانایی همزمان تصفیه مواد آلی و اورانیوم با استفاده از ماده آلی به عنوان دهنده الکترون.

۵) داشتن توانایی تصفیه آبهای سطحی و زیرزمینی به طریق زیستی در همان مکان آلوده.

نهایی معدنی کردن بقایای مواد آلی تجزیه شده را انجام می‌دهند. این ارگانیسم‌ها برای تولید انرژی از اسیدهای آلی (لاکتان، استات، پروپیونات، بوتیرات و فومارات)، اتانل، بنزووات و H_2 به عنوان دهنده الکترون استفاده کرده و از سولفات‌به عنوان پذیرنده نهایی الکترون استفاده می‌کنند و آن را به هیدروژن سولفوفوره (H_2S) احیا می‌نمایند. ده درصد سولفید تولید شده در محیط‌های رسویات دریا با یون‌های فلزات واکنش داده، سولفیدهای نامحلول فلز را تشکیل می‌دهند. آهن یکی از فلزات آب دریا می‌باشد. در رسویات دریا به دنبال تولید هیدروژن سولفوفوره آهن پس از طی چند واکنش به پیریت تبدیل می‌شود:



سولفید فرو بی‌شكل به تدریج به ماده بلوری شکل به نام مکیناوایت^۱ ($\text{FeS}_{0.9}$) تبدیل می‌شود. این ترکیب با گوگرد عنصری واکنش داده و پیریت را به وجود می‌آورد.



در دریاچه‌های آب شیرین میزان سولفات‌بسیار کم است (در حدود 1 mg/L) و از این رو توانایی انجام متابولیسم وابسته به سولفات محدود می‌باشد. با این حال پساب‌های اسیدی معادن حاوی غلظت‌های زیادی از فلزات سنگین و نیز سولفات‌می‌باشند. از این رو غنی‌سازی این پساب‌ها با مواد آلی موجب رشد باکتری‌های احیا کننده سولفات‌به عنوان (SRB) می‌شود. این باکتری‌ها با متابولیسم خود و تولید سولفید باعث رسبود دهی سولفیدهای فلزات سنگین می‌شوند. به علاوه یون‌های بی‌کربنات که فراورده نهایی اکسیداسیون مواد آلی است موجب افزایش pH می‌گردد.

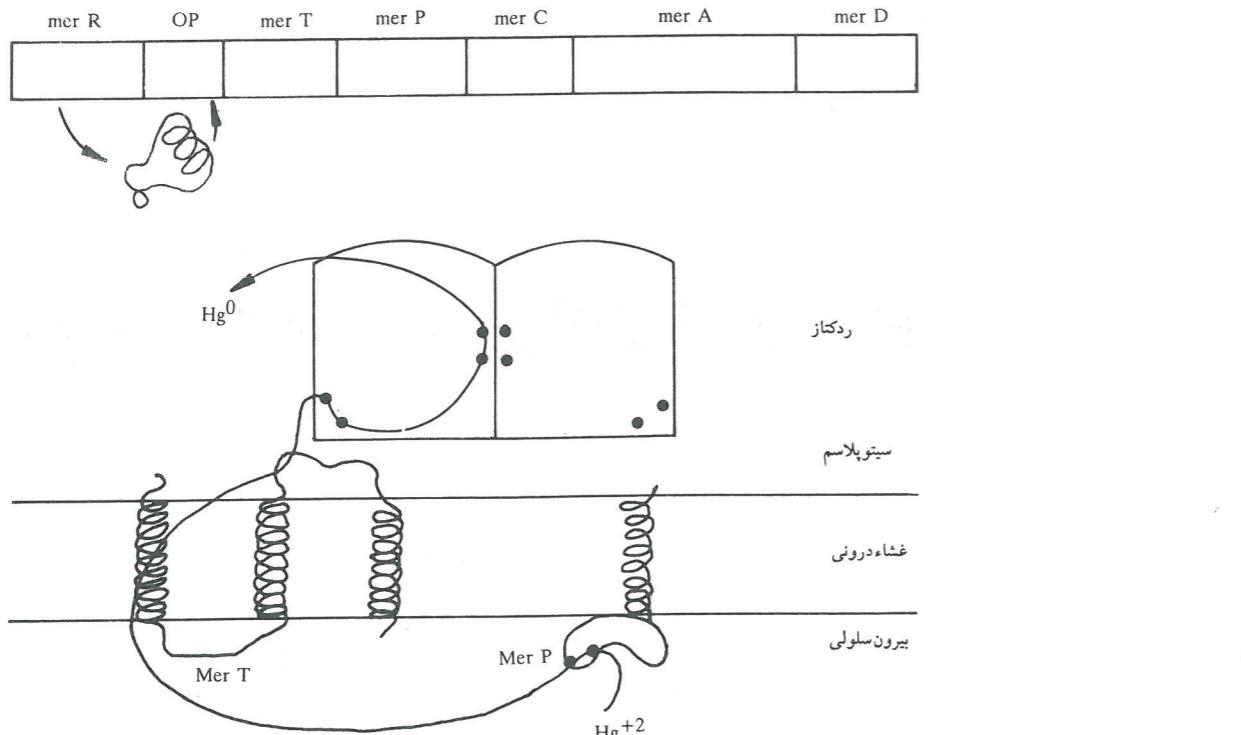
برای مثال در دهه ۱۹۷۰ در مانیتوبل^۲ کانادا پساب یک معدن و کارخانه ذوب سنگ معدن که حاوی کادمیوم، مس، آهن، روی، جیوه و سولفات بود در دریاچه‌ای در کنار آن رها می‌شد. این دریاچه به علاوه محل ورود فاضلاب شهر مجاور

1- Biotransformation
3- Shewanella putrefaciens
5- Enterobacter cloacae

2- Geobacter metallireducens
4- Desulfovibrio desulfuricans
6- Minamata

1- Mackinawite
3- Shell
5- Citrobacter

2- Manitoba
4- Budelco BV



شکل ۳- سیستم مقاومت به جیوه و ترکیبات آلی حاوی جیوه در باکتری های گرم منفی

در سیستمی که عمل اختلاط در آن سریع صورت می گیرد Hg^{2+} در اتمسفر سریعاً به صورت بخار خارج می گردد. در غیاب هوادهی مناسب مثل یک اکوسیستم آرام Hg^0 به لیپیدها، کربوهیدراتها و مواد گوگر دار متصل می شود.

آنزیم است متصل می شود. Hg^{2+} توسط الکترون هایی که از FAD به آنزیم منتقل می شود احیا می گردد. Hg^0 از آنزیم رها شده و سریعاً از سلول به بیرون انتشار می یابد (این پدیده ظاهراً بدون حامل پروتئینی خاص صورت می گیرد).

منابع و مراجع

- Glazer, A., and Nikado, H. (1995). " Microbial Biotechnology ", Chap. 15, PP. 611 - 614, W. H. Freeman and Company.
- Ghafourian, H., and Farazmand, A. (1997). " Removal of Radium by a New Bacterium MGF - 48 ", 4th International Conference on Method and Application of Radioanalytical Chemistry, April 1997, Hawaii, U.S.A.
- Gadd, G.M. (1993). " Microbial Treatment of Metal Pollution, a Working Biotechnology ", Trend Biotechnology, 11, 353 - 357.
- Malekzadeh, F., Ghafourian, H., and Farazmand, A. (1995). " Microbial Accumulation of Uranium by Chryseomonas Luteola Strain MGF - 48 ", Abstract of the 95th General Meeting of the American Society for Microbiology, Washington DC, 21 - 25 May, PP. 330.
- Malekzadeh, F., Farazmand, A., Ghafourian, H., Shahamat, M., and Collwell, R.R. (1995). " Uranium Accumulation by Bacterium Isolated from Electroplating Effluent ", Appl. Environ. Microbiol. (Submitted).
- Macaskie, L. E. (1991). " The Application of Biotechnology to the Treatment of Waste Produced from the Nuclear Fuel Cycle ", Critical Review in Biotechnology, II (1): 41 - 59.

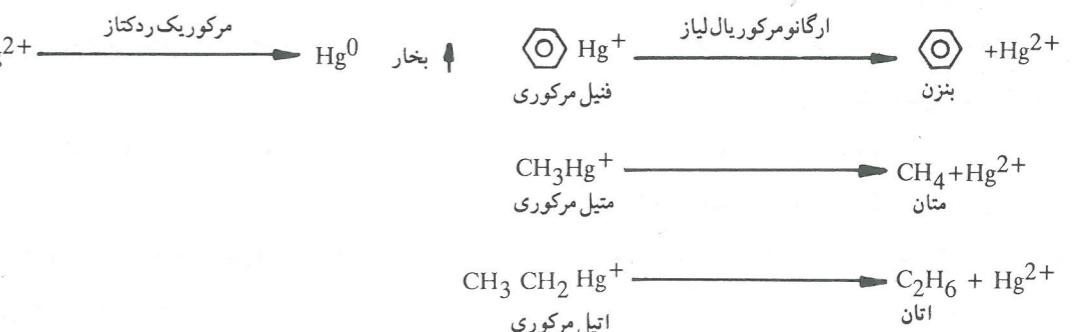
طریق ژن تنظیم کننده R mer فعال می شود. قطعه اپرون پرومотор دارای ۷۵ جفت باز نوکلئوتید است. در غیاب یون های جیوه پروتئین Mer R ستتر ژن های بعدی (ژن های ساختمانی) را مهار می کند. وقتی یون های جیوه به پروتئین Mer R اضافه می شود این پروتئین به صورت یک الگوی تنظیمی مثبت عمل کرده و باعث افزایش ستتر mRNA تا بیش از صد برابر می گردد و به این ترتیب سیستم مقاومت به جیوه فعال می گردد. در واقع اتصال Hg^{2+} به پروتئین Mer R موجب تغییر آرایش فضایی DNA شده و در نتیجه سبب ایجاد بر هم کنش مناسب میان RNA پلیمراز و علائم آغاز ترجمه بر روی DNA می گردد. سپس ژن های بعدی نسخه برداری می شوند. محصول Mer T این ژن ها در انتقال جیوه و سم زدایی آن دخالت دارند. Mer T محصول اولین ژن است که یک پروتئین درون غشایی بوده و به عنوان سیستم انتقال Hg^{2+} عمل می کند. این پروتئین، جیوه را زیرون سلول به درون سلول منتقل می کند. Mer P پروتئینی است که در فضای پری پلاسمی قرار دارد و دارای دو نقش عمده است: ۱) نقش تصفیه کننده گروه کربوکسیل آنزیم به جیوه خارج سلولی باعث حفظ غشای سلول می گردد و ۲) عامل انتقال جیوه به سیستم انتقال دهنده Mer T می باشد. جیوه از Mer T مستقیماً به آنزیم مرکوریک ردکتاز (Mer A) منتقل می شود. نقش Mer T احتمالاً در تنظیم اپرون Mer می باشد. یون جیوه به یک جفت سیستین در انتهای گروه کربوکسیل آنزیم مرکوریک ردکتاز متصل می شود. این سیستین ها نقش حفاظت آنزیم را بر عهده دارند. معلوم شده است که Hg^{2+} در مرکز یک چهارگوش شامل جفت سیستین های کربوکسیل انتهایی و بخش فعال

متیل و دی متیل مرکوری شده اند. سپس این مشتقات از طریق زنجیره غذایی در موجودات عالی تر تجمع یافته است.

$$Hg^{2+} \longrightarrow CH_3Hg^+ \longrightarrow (CH_3)_2Hg$$

اما فرایندی که در تصفیه جیوه از پساب های صنعتی بسیار حائز اهمیت است احیا و تبخیر Hg^0 به Hg^{2+} است. نکته قابل توجه در این فرایند آن است که مکانیسم مقاومت به جیوه در باکتری ها در واقع همان مکانیسم سم زدایی به طریق آنزیمی است. در این مکانیسم Hg^{2+} بسیار سُمّی به Hg^0 که به مراثب سُمّیت کمتری دارد تبدیل شده و به صورت بخار از محیط آلوهه و باکتری خارج می شود. مواد آلی حاوی جیوه نظر فنیل مرکوری، متیل مرکوری و اتیل مرکوری از طریق آنزیم به Hg^{2+} و ترکیبات آلی نظری بنزن، متان و اتان تبدیل می شوند. این دو فرایند توسط آنزیم های مرکوریک ردکتاز و ارگانومرکوریال لیاز صورت می پذیرند (شکل ۲). در یک بیوراکتور غلظت جیوه از ۱۲ mg/l به ۷۵ mg/l درصد جیوه از پساب حذف می گردد. این مقدار جیوه احیا شده را می توان با استفاده از ستون های حاوی ذغال فعل بازیابی کرد [۱, ۲].

سیستم مقاومت به جیوه مربوط به شش ژن است که محصول هر کدام از این ژنها در تنظیم جذب جیوه در سلول، اتصال و انتقال یون جیوه به آنزیم درون سلولی مرکوریک ردکتاز و احیا و تبخیر جیوه شرکت دارند. سازماندهی این سیستم ژنی در باکتری ها در شکل ۳ نشان داده شده است. برخی از جزئیات مکانیسم عمل این سازماندهی ژنی در باکتری های گرم مثبت با باکتری های گرم منفی تفاوت دارد. اپرون mer از



شکل ۲- آنزیم های تجزیه کننده جیوه و ترکیبات آلی حاوی جیوه