بررسی حذف بیولوژیکی نیکل(II) با استفاده از باکتری های جدا شده از فاضلاب صنعتی مجتمع فولاد مبارکه اصفهان

رمضان صادقی[۱]، مهربان صادقی[۱]، رحمان عبدی زاده[۲]، سلیمان فروزند شهرکی[۱]، محمدرسول اسدی امیرآبادی[۱*]

۱) گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲) گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۹/۱۲ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۱۸**

چکیده

مقدمه: فلزات سنگین یکی از آلاینده های پایدار و غیرقابل تجزیه بیولوژیکی هستند که می توانند در محیط زیست، به آب، خاک و هوا وارد شده و بدین ترتیب وارد زنجیره غذایی شوند. در سال های اخیر روش های بیولوژیکی به ویژه با کمک باکتری ها، به منظور حذف فلزات سنگین از پساب های صنعتی، رایج شده است. هدف از انجام این مطالعه شناسایی باکتری های مقاوم به نیکل در تصفیه خانه شیمیایی مجتمع فولاد مبارکه اصفهان بود.

مواد و روش ها: نمونه های پساب و لجن پس از رقیق سازی و انتقال بر روی محیط کشت از نظر نوع باکتری و مقاومت آن ها نسبت به نیکل(II) مورد ارزیابی قرار گرفت. سویه های مقاوم به نیکل(II) برای انجام تست های مرفولوژی و بیوشیمیایی و سویه Micrococcus luteus SEHD031RS برای حذف فلز نیکل(II) انتخاب شدند.

یافته های پژوهش: این مطالعه نشان داد پنج سویه دارای مقاومت بالا نسبت به فلز نیکل(II) هستند. که دو سویه Micrococcus luteus SEHD031RS و Paenibacillus lautus SEHD031MRA به ترتیب با رشد در غلظت های ۱۱۰ و ۹۰ میلی گرم بر لیتر نیکل(II) بالاترین مقاومت به این فلز را از خود نشان دادند. در این مطالعه بالاترین میزان حذف فلز نیکل(II) در pH شش با راندمان ۷۵/۳۹ درصد و کمترین میزان حذف نیکل(II) در pH دو با راندمان ۳/۲۲ درصد برای سویه Micrococcus luteus SEHD031RS مشاهده شد.

بحث و نتیجه گیری: از یافته های این تحقیق می توان نتیجه گرفت که سویه های شناسایی شده با توجه به ویژگی هایی که در این مطالعه آمده است، می توانند انتخابی مناسب برای حذف فلز نیکل(II) از پساب های صنعتی باشند.

واژه های کلیدی: پساب صنعتی، نیکل(II)، حداقل غلظت بازدارندگی، حذف زیستی

* نویسنده مسئول: گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

Email: rasulasadi70@gmail.com

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.4.13]

مقدمه

فلزات سنگین یکی از آلاینده های پایدار و غیرقابل تجزیه بیولوژیکی هستند که پس از ورود به محیط زیست از طریق آب، خاک و هوا به زنجیره غذایی وارد شوند. کاربردهای متعدد صنعتی، خانگی، کشاورزی، پزشکی و تکنولوژیکی منجر به نشر گسترده آن ها در محیط زیست شده و این امر منـــجر به افزایش نگرانی ها در مورد اثرات بالقوه این فلزات بر سلامت انسان و محیط زیست شده است(۱).

سمیت فلزات سنگین به عوامل متعددی از جمله میزان، نحوه تماس، اشکال شیمیایی، خصوصیات فردی از قبیل سن، جنس، ژنتیک، و وضعیت تغذیه ای افراد در معرض تماس بستگی دارد(۲). عناصری هم چون آرسنیک، کادمیوم، نیکل، کروم، سرب و جیوه به دلیل میزان بالای سمیت از ارجحیت بیشتری در مبحث بهداشت عمومی برخوردارند(۳). در بســـیاری از کشورهای جهان از جمله ایران، قوانینی در رابطه با میزان فلزات سنگین در فاضلاب های صنعتی قبل از رها سازی به طبیعت وجود دارد(۴). برای حذف فلزات سنگین رویکردهای موثر و متعددی وجود دارد(۵). برای دستیابی به این هدف می توان از روش های مختلفی استفاده نمود، از جمله این روش ها می توان به اکسیداسیون و احیاء، تعویض یونی، ترسیب شیمیایی، روش های غشایی، جذب سطحی و روش های بیولوژیکی اشاره کرد(۶). روش های فیزیکو شیمیایی برای حذف این آلاینده ها چندان موثر و یا اقتصادی نیستند(۸-۳،۶). بنا بر ایـــن طی دو دهه گذشته روش های بیولوژیکی ازجمله به کارگیری باکتری های مقاوم آلاینده ها به عنوان گزینه های اقتصادی و سازگار با محیط زیســـت مـــورد توجـــه قرار گرفته اند(۹،۱۰).

نیکل از جمله عناصری است که در بخش های مختلف کره زمین یافت می شود. این فلز از نظر وزنی و فراوانی در پوسته زمین به ترتیب پنجمین و بیست و چهارمین است(۲). از نیکل به صورت مختلف در صنایع استفاده می شود از جـــمله در صنـــعت فولاد و ریخته گری، تولید رنگ‌ها، لعاب کاری ظروف چینی، ساخت موتور اتومبیل و هواپیما(۳). نیکل ظرفیت های ($^{+}$۱،۰، $^{+}$۲، $^{+}$۳، $^{+}$۴) متعددی دارد، اما شایع ترین آن صفر و $^{+}$۲ هستند. سمیت و سرطان زایی نیکل(II) ظرفیتی بیشتر از سایر ظرفیت های این فلز است(۱۱).

لجن تصفیه خانه شیمیایی بعضی از صنایع فولاد، حاوی مقدار قابل توجه‌ایی فلز سنگین نیکل(II) است. حداکثر غلظت مجـــاز این فلز در آب آشامیدنی ۰/۲ میلی گرم بر لیتر و میزان استاندارد تخلیه به آب های سطحی، چاه جاذب و مصارف کشاورزی و آبیاری ۲ میلی گرم بر لیتر تعیین شده است(۳،۱۲).

نیکل(II) می تواند در انسان باعث بیماری قلبی عروقی، درد قفسه سینه، التهاب پوست، سرگیجه، سرفه خشک و تنگی نفس، سردرد، بیماری های کلیه، سرطان ریه و بینی، تهوع شود. تاثیری نیکل(II) بر گیاهان شامل کاهش میزان کلروفیل، مهار فعالیت های آنزیمی و رشد، کاهش جذب مواد مغذی است. این فلز می تواند در میکروارگانیسم ها باعث تخریب غشاء سلولی، مهار فعالیت آنزیمی و استرس اکسیداتیو شود(۳).

سرطان زایی نیکل(II) در حیوانات آزمایشگاهی به وضوح اثبات شده است بنا بر این مواجهه شغلی و ورود آن به محیط زیست باید به دقت کنترل و پایش شود(۱۱). هدف از تحقیق حاضر، جداسازی و شناسایی مولکولی باکتری های مقاوم به نیکل(II) از تصفیه خانه شیمیایی مجتمع فولاد مبارکه اصفهان با روش 16SrDNA و بررسی راندمان حذف نیکل در اثر عوامل مختلف نظیر pH، غلظت و مدت زمان تماس(II) است.

مواد و روش ها

نمونه برداری و آماده سازی نمونه ها: در این مطالعه نمونه گیری از پساب و لجن در ظروف سترون، از تصفیه خانه شیمیایی مجتمع فولاد مبارکه اصفهان انجام گرفت. نمونه ها در شرایط استریل پس از حمل در جعبه یخ، فوراً به مجموعه آزمایشگاهی و کارگاهی گروه مهندسی بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد منتقل شد(۱۳).

آماده ســـازی نمونه ها، کشت و جداسازی اولیه سویه ها: نمونه های پساب و لجن پس از رقیق سازی از ^{۱}۰-^{۷}۰ بر روی پلیت های حاوی محیط کشت

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.4.13]

Brain Heart Infusion agar (BHI) کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۱±۳۴ درجه سانتی گراد، گرمخانه گذاری شدند. سپس ریخت شناسی پرگنه ها مورد مطالعه قرار گرفت. پلیت هایی که به میزان کافی و مناسبی پرگنه با اشکال ماکروسکوپی مختلف داشتند، انتخاب شده و از روش کشت خطی برای جداسازی و خالص سازی انواع سویه ها استفاده شد(۱۰).

تعیین مقاومت سویه ها: برای تعیین سویه های مقاوم به نیکل(II) در این مرحله، محیط های کشت نوترینت آگار محتوی فلز نیکل به غلظت ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ پی پی ام با استفاده از نیترات نیکل تهیه شد. پس از کشت سویه های تخلیص شده مرحله قبلی، حداقل غلظت بازدارندگی minimal inhibitory concentration (MIC) سویه های مورد نظر در غلظت های بالای نیکل(II) سنجش شد، و بهترین سویه ها برای مرحله بعدی انتخاب گردید(۱۷-۱۴).

تشخیص افتراقی سویه ها: باکتری های خالص شده مطابق با روش برگی مورد شناسایی قرار گرفتند، آزمون ها شامل رنگ آمیزی گرم، ریخت شناسی، اسپور،گلوکز، مانیتول، نمک ۶/۵ درصد، حرکت، اندول، H_2S، کاتالاز، اکسیداز، تولید اسید از گلوکز، هیدرولیز نشاسته و مصرف سیترات بود(۱۸).

بررسی حساسیت آنتی بیوتیکی سویه ها: برای تعیین مقاومت سویه های جدا شده از ۴ آنتی بیوتیک پر مصرف در ایران شامل آموکسی سیلین، سفیکسیم، آزیترومایسین و سفالکسین استفاده شد. برای بررسی حساسیت سویه ها آنتی بیوتیک های مذکور، یک کلنی بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار پخش شد. دیسک های آنتی بیوتیک بر روی پلیت گذاشته شده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۱±۳۴ درجه سانتی گراد قرار داده شد، سپس قطر هاله تشکیل شده مورد بررسی قرار گرفت(۱۹).

شناسایی مولکولی واکنش زنجیره پلیمراز سویه ها با روش 16SrDNA و تعیین توالی آن ها: برای شناسایی سویه های برتر از آزمون تعیین توالی 16SrDNA استفاده شد. استخراج ماده ژنتیکی با استفاده از روش جوشاندن انجام گرفت. پس از انجام آزمون کیفی و کمی با دستگاه نانو درآپ محلول استخراج شده برای بررسی های مولکولی ذخیره شد. واکنش PCR شامل ۱/۵ میکرولیتر DNA، ۸ میکرولیتر آب مقطر سترون استریل، ۱۰ میکرولیتر Master mix، ۰/۲۵ میکرولیتر پرایمر برگشت و ۰/۲۵ میکرولیتر پرایمر رفت بود(۲۰).

شرایط واکنش PCR شامل دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۵ سیکل، ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۳ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ ثانیه و گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۸ دقیقه بود. برای بررسی صحت کیفی پرایمر، ۲ میکرولیتر از محصول همراه را با Gel Read و Dy 6X بر روی ژل آگارز ۱/۲ درصد منتقل و با انجام الکتروفورز پس از مدت زمان یک ساعت با ولتاژ ثابت ۱۲۰ ولت و مشاهد باندهای bp ۱۱۰۰ صحت انجام PCR تایید شد. برای تعیین توالی محصول PCR، آمپلیکون ها توسط آزمایشگاه Sequetech Company در ایالات متحده آمریکا تعیین توالی شد. سپس تشابه توالی های به دست آمده از آمپلیکون ها با توالی های موجود در بانک ژنی National Center for Biotechnology Information (www.ncbi.nlm.nih.gov) با استفاده از نرم افزار BLAST بررسی شده و ایزوله ها شناسایی شدند.

تعیین میزان اثر زمان تماس، غلظت و pH در حذف نیکل(II): برای انجام عملیات حذف، ۱ میلی لیتر از محیط کشت نوترینت براث حاوی ۹/۶ میلی گرم باکتری با ۹ میلی لیتر محلول حاوی فلز نیکل(II) در ارلن ۱۰۰ میلی لیتری، مخلوط و روی شیکر انکوباتور با دور ۲۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۱±۲۴ درجه سانتی گراد تکان داده شد. اثر عوامل مختلف نظیر pH، اثر غلظت و اثر زمان تماس در جذب نیکل(II) توسط سویه مقاوم انجام گرفت. روش تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از آمار توصیفی و واریانس یک طرفه یا ANOVA می باشد(۲۱). محتویات فلاسک به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۵۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ و محلول رویی به منظور تعیین میزان نیکل(II) باقی مانده به

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.4.13]

کمک دستگاه اسپیکتوفتومتر جذب اتمی(مدل Varian 240) سنجش شد(۱۶،۲۲). pH محیط با استفاده از هیدروکلریک اسید یک دهم مولار یا سدیم هیدروکسید یک دهم مولار تنظیم شد. در تمام آزمایشات، مجموعه نمونه های شاهد بدون هرگونه سلول باکتریایی نیز مورد بررسی قرار گرفت.

یافته های پژوهش

آنالیز شیمیایی شامل کروم(VI) نیکل(II)، سرب، BOD، COD، TKN و pH بر روی نمونه های گرفته شده از مجتمع فولاد مبارکه اصفهان انجام گرفت. میزان نیکل در پساب ۰/۰۰۶ میلی گرم بر لیتر و در لجن ۳/۰۱۸ میلی گرم بر لیتر است، نتایج حاصل از آنالیز شیمیایی در جدول شماره ۱ آمده است. تعیین حداقل غلظت بازدارنده(MIC) و حداقل غلظت کشندگی(MBC) بر روی باکتری های استخراج شده از مجتمع فولاد مبارکه اصفهان انجام گرفت، که حداقل غلظت بازدارنده، برای باکتری Micrococcus luteus SEHD031RS به میزان ۱۱۰ میلی گرم بر لیتر و حداقل غلظت کشندگی، برای باکتری Paenibacillus lautus SEHD031MRA به میزان ۱۷۰ میلی گرم بر لیتر بود، نتایج حاصل از MIC و MBC در جدول شماره ۲ آمده است. خصوصیات بیوشیمیایی و مورفولوژی ایزوله‌های مقاوم به نیکل(II) شامل تست‌های رنگ آمیزی گرم، مشاهده مورفولوژی سویه ها، رنگ آمیزی اسپور، تخمیر گلوکز، تخمیر مانیتول، مقاومت به NaCL ۶/۵ درصد، حرکت، کاتالاز، اکسیداز، تولید اسید از گلوکز، هیدرولیز نشاسته و مصرف سیترات مورد بررسی قرار گرفت، نتایج در جدول شماره ۲ آمده است. تست مقاومت به آنتی بیوتیک ۵ سویه فوق انجام گرفت، که نتایج حاصل از آن در جدول شماره ۳ آمده است. تشابه توالی های به دست آمده از آمپلیکون ها با توالی های موجود در بانک ژنی National Center for Biotechnology Informatio با استفاده از نرم افزار BLAST با روش 16 s rDNA بررسی شده و ایزوله ها شناسایی شدند، که منجر به دریافت پنج Accession Number از بانک جهانی ژن شد. اثر عوامل مختلف نظیر pH با دامنه ۲، ۴، ۶، ۸ غلظت با رنج ۱۰، ۱۵، ۲۰ میلی گرم بر لیتر و مدت زمان تماس با دامنه ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ ساعت در جذب نیکل(II) توسط سویه Micrococcus luteus SEHD031RS انجام شد که بالاترین میزان حذف در pH شش و زمان تماس ۹۶ ساعت و غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر با بازده حذف ۷۵/۳۹ درصد به دست آمد، نتایج حاصل از بازده حذف در نمودارهای شماره ۱ الی ۳ نشان داده شده است.

جدول شماره ۱. خصوصیات شیمیایی پساب و لجن مجتمع فولاد مبارکه اصفهان

نوع فاضلاب / مشخصات	پساب	لجن
کروم شش ظرفیتی (میلی‌گرم بر لیتر)	۲۳/۹۲	۴۴/۹۰
نیکل دو ظرفیتی (میلی‌گرم بر لیتر)	۰/۰۰۶	۳/۰۱۸
سرب (میلی‌گرم بر لیتر)	۰/۰۶	۱/۹۱
BOD (میلی‌گرم بر لیتر)	۱۷۰	–
COD (میلی‌گرم بر لیتر)	۳۲۰۰۰	–
pH	۴/۹۲	۸/۲۵
TKN (میلی‌گرم بر لیتر)	۱/۸۷۵	–

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.4.13]

جدول شماره ۲. نتایج بیوشیمیایی، ریخت شناسی، حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی(بر حسب میلی گرم بر لیتر) سویه های مقاوم به نیکل(II) جدا شده از فاضلاب مجتمع فولاد مبارکه اصفهان

ویژگی / باکتری	رنگ آمیز گرم	ریخت شناسی	اسو	حرکت	کاتالاز	اکسیداز	هیدرولیز نشاسته	مصرف سیترات	نمک ۶/۵ درصد	گلوکز	تولید اسید از گلوکز	مانیتول	اندول	سولفید هیدروژن	حداقل غلظت بازدارندگی(mg/l)	حداقل غلظت کشندگی(mg/l)
Micrococcus luteus SEHD031RS	مثبت	کوکسی	−	+	+	−	−	−	+	−	−	−	−	−	۱۱۰	۱۵۰
Bacillus cereus SEHD031MH	مثبت	باسیل	+	+	+	−	+	−	+	+	−	+	−	−	۷۰	۹۰
Bacillus safensis SEHD031RA	مثبت	باسیل	+	−	+	−	+	−	+	−	−	−	−	−	۴۰	۷۰
Bacillus firmus SEHD031MS	مثبت	باسیل	+	−	+	+	−	+	+	+	−	+	−	−	۶۰	۱۰۰
Paenibacillus lautus SEHD031MRA	مثبت	باسیل	+	+	−	−	+	−	+	+	−	+	−	−	۹۰	۱۷۰

جدول شماره ۳. نتایج آزمون مقاومت سویه ها جدا شده از مجتمع فولاد مبارکه اصفهان به آنتی بیوتیک های آموکسی سیلین، سفیکسیم، آزیترومایسین و سفالکسین بر اساس قطر هاله بر حسب سانتی متر

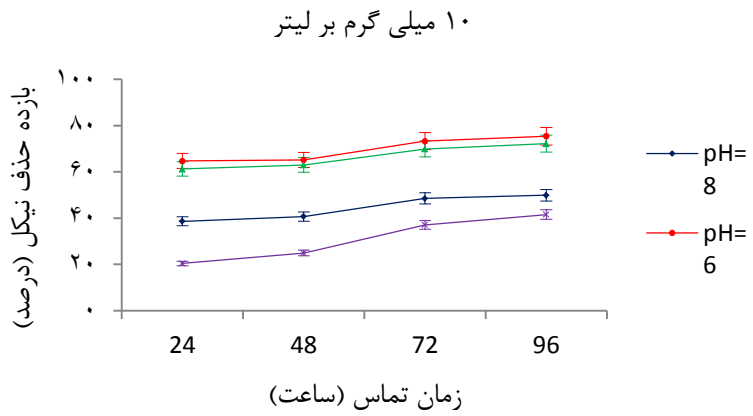
باکتری / آنتی بیوتیک	قطر هاله بر حسب سانتی متر					غلظت آنتی‌بیوتیک mcg per disc
	Micrococcus luteus SEHD031RS	Bacillus cereus SEHD031MH	Bacillus safensis SEHD031RA	Bacillus firmus SEHD031MS	Paenibacillus lautus SEHD031MRA	
آموکسی سیلین	۲/۸	۲/۶	مقاوم	۲/۱	مقاوم	۲۵
سفیکسیم	۱/۱۵	۱/۹	۱/۶	۱/۲۵	مقاوم	۵
آزیترومایسین	۲/۹	۱/۲۵	۱/۸۵	۲/۵۵	۱/۱۵	۱۵
سفالکسین	۲/۶۵	۱/۲۵	۲/۶	۲/۵	۰/۸	۳۰

جدول شماره ٤. شناسایی مولکولی باکتری های جدا شده از فاضلاب مجتمع فولاد مبارکه اصفهان

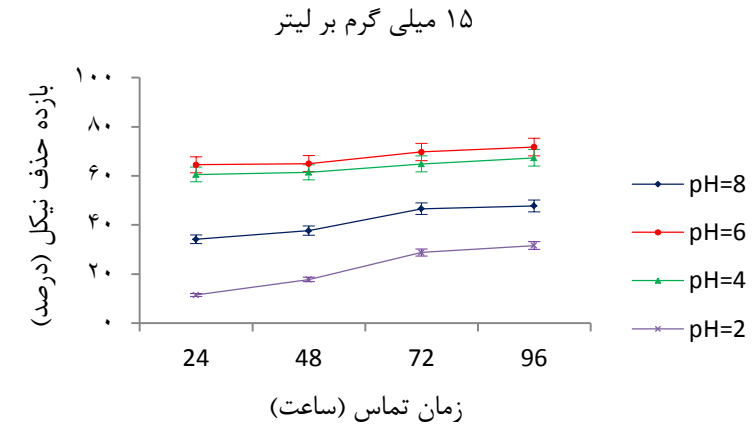
درصد تشابه	Bacterial	Primers R 5-3	primers F 5-3	Accession Number
97	Micrococcus luteus	CGTGTCCGACCACTGTTC	ATCGGTGCGTTCCTCTCC	MG011739
91	Paenibacillus lautus	TACGGYTACCTTGTTACGACTT	AGATTTGATCMTGGCTCAG	MF927592
97	Bacillus firmus			MF928402
98	Bacillus safensis			MF927595
98	Bacillus cereus			MF927571

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

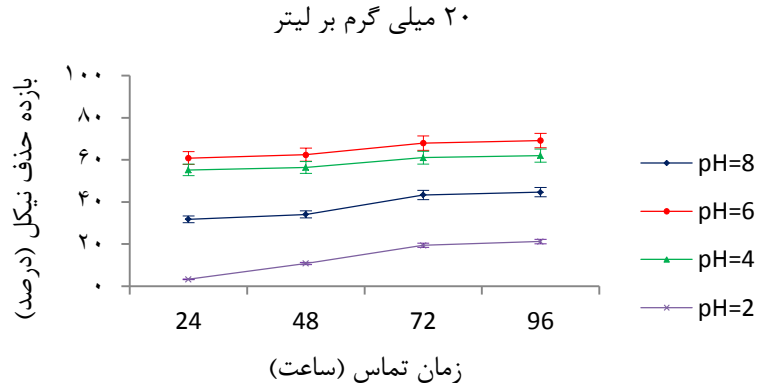
[DOI: 10.29252/sjimu.27.4.13]



نمودار شماره ۱. اثر زمان تماس و pH های مختلف بر بازده حذف نیکل(II) با سویه Micrococcus luteus SEHD031RS در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر بر حسب درصد(سرعت اختلاط: ۲۰۰ دور بر دقیقه، دمای محیط ۲۵ درجه سانتی گراد)



نمودار شماره ۲. اثر زمان تماس و pH های مختلف بر بازده حذف نیکل(II) با سویه Micrococcus luteus SEHD031RS در غلظت ۱۵ میلی گرم بر لیتر بر حسب درصد(سرعت اختلاط: ۲۰۰ دور بر دقیقه، دمای محیط ۲۵ درجه سانتی گراد)



نمودار شماره ۳. اثر زمان تماس و pH های مختلف بر بازده حذف نیکل(II) با سویه Micrococcus luteus SEHD031RS در غلظت ۲۰ میلی گرم بر لیتر بر حسب درصد(سرعت اختلاط: ۲۰۰ دور بر دقیقه، دمای محیط ۲۵ درجه سانتی گراد)

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.4.13]

بحث و نتیجه گیری

از نمونه پساب و لجن گرفته شده از پساب و لجن حاوی نیکل(II)، ۲۴ سویه جداسازی و خالص سازی شد. با استفاده از سویه های جدا شده، و افزایش غلظت نیکل(II)، ۵ سویه که بالاتر از غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر رشد داشتند برای انجام آزمایش حداقل غلظت رشد انتخاب شدند. جدول شماره ۲ نشان می دهد که بیشترین MIC و کمترین MIC برای سویه های جداسازی شده به ترتیب متعلق به Micrococcus luteus SEHD031RS با ۱۱۰ میلی گرم بر لیتر و Bacillus safensis SEHD031RA با ۴۰ میلی گرم بر لیتر می باشد، هم چنین بیشترین MBC و کمترین MBC برای سویه های جداسازی شده به ترتیب متعلق به Paenibacillus lautus SEHD031MRA با ۱۷۰ میلی گرم بر لیتر و Bacillus safensis SEHD031RA با ۷۰ میلی گرم بر لیتر می باشد. مطابق با تحقیقات Neito که بیان می دارد که باکتری هایی که توانایی رشد در غلظت یک میلی مول فلزات را داشته باشند، باکتری های مقاوم نامیده می شوند(۲۳)، بنا بر این تمام سویه های جداسازی شده در این مطالعه جزء باکتری های مقاوم به نیکل(II) قرار می گیرند.

سویه های مقاوم به نیکل(II) به دست آمده در این مطالعه را می توان به دو دسته تقسیم نمود. ۱)کوکسی گرم مثبت: Micrococcus luteus SEHD031RS و ۲) باسیل های گرم مثبت که عبارتند از Paenibacillus lautus SEHD031MRA، Bacillus firmus SEHD031MS، Bacillus safensis SEHD031RA، Bacillus cereus SEHD031MH. نتایج تحقیقات Sikander Sultan که بر روی فاضلاب حاوی نیکل انجام گرفت، منجر به شناسایی ۳ سویه باکتری B. cereus، B. pumilis، P. agglomerans که از گروه گونه های گرم مثبت بودند شد. که دارای حداقل غلظت رشد ۷۰۰ میلی گرم بر لیتر بود(۲۴). به طور کلی باکتری های گرم مثبت به دلیل ساختار دیواره سلولی ساده تر، کنترل کمتری نسبت به ورود مواد خارجی نشان می دهند، در صورتی که باکتری های گرم منفی دیواره سلولی و ساختار پروتئینی پیچیده تری داشته و ورود و جذب آلاینده های معدنی موجود در محیط بیرونی این باکتری ها، از جمله فلزات سنگین، با کنترل بیشتر و به میزان کمتری صورت می گیرد(۲۵).

مواجه سویه Micrococcus luteus SEH1RS با غلظت های مختلفی از نیکل(II) در شرایط محیطی متفاوت نشان داد که تغییرات pH و زمان تماس بر فرآیند حذف نیکل(II) تاثیرگذار بوده و می توانند بر روی حلالیت و رشد باکتری ها موثر باشند($P<0.05$). نمودار شماره ۱ تا ۳ تغییرات بازده حذف نیکل(II) به وسیله سویه Micrococcus luteus SEH1RS را نسبت به زمان تماس در pH های مختلف و برای غلظت های ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل(II) اولیه نشان می دهد. در نمودار شماره ۱ مشخص است، میزان حذف نیکل(II) در محیط های قلیایی(pH شش) از مقدار بیشتری برخوردار است، و با افزایش قدرت اسیدی(pH دو) علی رغم این فرضیه که با افزایش قدرت اسیدی، سطح باکتری از بار مثبت بیشتری برخوردار می شود و می تواند در جذب یون های منفی موثرتر واقع شود ولی به دلیل متوقف شدن رشد و احتمال غیر زنده بودن باکتری میزان حذف نیکل(II) به شدت کاهش یافته است(۸).

روند افزایش حذف با افزایش pH (از pH چهار) ادامه می یابد، تا در محدوده pH هشت میزان حذف نیکل(II) دوباره کاهش می یابد. نتایج مشابهه را برای غلظت های ۱۵ و ۲۰ میلی گرم بر لیتر می توان مشاهده کرد(نمودار شماره ۲ و ۳) با این تفاوت که وقتی pH محیط نسبتاً قلیایی می شود(pH شش)، راندمان حذف نیکل(II) افزایش می یابد ولی در pH های اسیدی تغییرات محسوسی در میزان حذف رخ نمی دهد. تحقیقات نشان می دهد در pH زیر سه رقابتی بین نیکل و پروتون در جهت اتصال به گروه های سطحی ایجاد می شود در نتیجه میزان جذب پایین می آید. از طرفی دیگر در pH بالای هفت، نیکل به صورت هیدروکسید رسوب می کند و مقدار آن به صورت آزاد کاهش یافته در نتیجه میزان جذب پایین می آید(۲۰).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.4.13]

در محدوده pH مورد مطـــــالعه(۸-۲ برای غلظت های ۱۰، ۱۵۰، ۲۰ میلی گرم بر لیتر) حداکثر میزان حذف نیکل(II) در pH شش، زمان تماس ۹۶ ساعت و غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر به دست آمد که برابر با ۷۵/۳۹ درصد و حداقل میزان حذف نیکل(II) در pH دو، زمان تمـــــاس ۲۴ ساعت در غلظت ۰v۲ میلی گرم بر لیتر به دست آمد که برابر با ۳/۲۲ درصد مشاهد شد. نتایج تحقیقات Haq، بالاترین میزان حذف کروم(VI) در باکتری Kocuria rhizophila را در pH چهار به میزان ۱۴/۴ میلی گرم بر گرم نشان داد(۱۰). اثر pH بر جذب کروم(VI) می تواند به بار سطح سلول های میکروبی نسبت داده شود، و زمانی که pH افزایش یابد، بار کلی سطح در سلول ها منفی می شـــود و منجر به کاهش جذب آنیونی کروم(VI) می شود(۲۴). تحقیقات Zouboulis که بر روی باکتری های Bacillus laterosporus و Bacillus licheniformis انجام گرفت، بالاترین میزان حذف را در pH هشت نشان داد(۲۶).

در این مطالعه حداکثر حذف در pH چهار و شش مشاهده شد که احتمالاً نمی توان pH را تنها عامل موثر بر حذف در نظر گرفت، بلکه رشد باکتری و زمان تماس را هم می توان در حذف نیکل(II) موثر دانست. مطالعات MIC بر روی سویه Micrococcus luteus SEHD031RS نشان داد که این باکتری در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر دارای رشد بسیار خوب و در غلظت ۱۱۰ میلی گرم بر لیتر دارای رشد محدودتری می باشد. نتایج تحقیقات Sultan که بر روی فاضلاب حاوی نیکل انجام گرفت. منجر به شناسایی ۳ سویه باکتری B.cereus، B.pumilis، P. agglomerans که از گروه گونه های گرم مثبت بودند شد که دارای حداقل غلظت رشد ۷۰۰ میلی گرم بر لیتر بود(۲۴). نتایج تحقیقات H Al-Daghistani که بر روی سه فلز مس، نیکل و کروم نشان داد چهار سویه B.sphaericus، B.pumilus، Panibacillus alvae و Geobacillus sterothermophilus دارای حداقل غلظت رشد به ترتیب برای فلز مس ۱۵۰، ۱۳۰، ۱۱۰ و ۹۰ فلز نیکل ۹۰، ۱۱۰، ۹۰ و ۱۱۰ فلز کروم ۱۱۰، ۱۱۰، ۹۰ و ۱۳۰ میلی گرم بر لیتر است(۲۷).

در این مطالعه با افزایش زمان تماس بازده حذف نیکل(II) افزایش پیدا کرد. نتایج این تحقیق بیشترین بازده حذف را در ۹۶ ساعت در pH های متفاوت و در غلظت های مختلف و کمترین بازده حذف را در مدت زمان ۲۴ ساعت نشان داد. در مطالعه Zahoor، که بر روی دو سویه Bacillus sp. JDM-2-1 و Staphylococcus capitis انجام گرفت نشان داد کمترین بازده حذف کروم(VI) در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و در مدت زمان ۲۴ ساعت به ترتیب ۴۰ و ۲۹ درصد و بالاترین بازده حذف در مدت زمان ۹۶ ساعت به ترتیب ۸۵ و ۸۱ درصد نشان داده شد(۲۸). در مطالعه Srivastava که بر روی جلبگ Aspergillus niger و به منظورحذف کروم(VI) انجام گرفت، نتایج نشان داد که با افزایش غلظت، بازده حذف کاهش پیدا کرده است، هم چنین بالاترین بازده حذف در مدت هفت روز به میزان ۹۰ درصد و کمترین میزان حذف طی یک روز و با راندمان کمتر از ۴۰ درصد نشان داده شد (۲۹).

در این تحقیق در pH بالاتر از چهار حذف نیکل(II) به مرور افزایش پیدا می‌کند و در pH بالاتر از شش میزان حذف، کاهش چشم گیری داشت، که این کاهش حذف را احتمالاً می توان به منفی شدن سطح باکتری در اثر تغییرات pH نسبت داد. Gavrilescu گزارش کـــــرد که دیواره سلولی باکتـــری ها نوعی پلی الکترولیت بوده و با یون های فلزی واکـــــنش می دهد تا بتواند با مکانیسم های اتصال کووالانسی، رسوب خارج سلولی، واکنش های ردوکس(اکسید و احیاء)، و نیروهای واندروالس حالت خنثی الکترونیکی سلول را حفظ کند(۳۰). pH متوسط، بر حلالیت فلزات و خواص یونیزاسیون گروه های عاملی فلز مانند کربوکسیلات، فسفات و گروه های آمینی دیواره سلولی و EPS تاثیر می گذارد. گروه های کربوکسیلات و فسفات بار منفی دارند(۲۴). بر اساس تحقیقات Yingmin که بر روی باکتری های مغناطیسی برای حذف کروم(VI) انجام گرفت، بالاترین میزان حذف در pH شش به میزان ۷۷ درصد گزارش شد(۳۱). نتایج تحقیقات H Al-Daghistani که بر روی نیکل انجام گرفت نشان داد چهار سویه B.sphaericus،

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.4.13]

B.pumilus، Panibacillus alvae و Geobacillus sterothermophilus به ترتیب دارای حذف در pH هفت در مدت زمان ۴۸ ساعت به میزان ۷۷، ۶۱، ۶۰ و ۶۸ درصد بود.

غلظت یکی از عواملی است که می تواند بر روی میزان حذف نیکل(II) دخالت داشته باشد. با توجه به انجام آزمایش MIC با افزایش غلظت، رشد باکتری مورد مطالعه محدود شد. میزان حذف نیکل(II) در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر بالاترین بازده و برابر با ۵۳/۶۱ درصد و در غلظت ۲۰ میلی گرم بر لیتر کمترین بازده و برابر با ۴۸/۷۳ درصد را نشان داد، که احتمالاً می تواند نشان دهنده تاثیر مستقیم غلظت بر ساختار و متابولیسم باکتری باشد. در پژوهشی که Taran بر روی سویه Bacillus sp. KL1 برای حذف نیکل انجام داد نشان داد، بالاترین میزان حذف در pH هفت در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر در مدت زمان ۲۴ ساعت به میزان ۵۵/۰۶ درصد بود(۳۲). پژوهشی که Ziagova بر روی گونه Arthrobacter از غلظت ۴۰ تا ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر انجام شد بالاترین میزان حذف کروم(VI) در غلظت ۴۰ میلی گرم بر لیتر، ۹۵ درصد و کمترین میزان حذف در ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر ۱۷ درصد گزارش شد(۳۳). نتایج تحقیقات Deng که بر روی سویه Penicillium chrysogenum برای حذف نیکل(II) انجام گرفت نشان داد، بالاترین میزان حذف در pH شش در مدت زمان ۳۶۰ دقیقه به میزان ۰/۹۳۷ میلی مول بر گرم بود(۳۴).

به طور کلی میکروارگانیسم ها به واسطه واکنش های بین یون های فلزی و سطوح باردار منفی میکروبی، به فلزات اتصال می یابند و در این میان، باکتری های گرم مثبت تمایل بیشتری برای اتصال به این یون ها دارند. بنا بر این در تصفیه بیولوژیک، میکروارگانیسم های مناسب تر هستند که غشاء آن ها بتوانند به فلزات متصل شده و همانند یک فیلتر عمل نمایند. با توجه به این مطالب می توان باکتری های گرم مثبت را کاندید بهتری در مسیر تصفیه بیولوژیک فلزات سنگین دانست(۲۵). در این تحقیق سعی شد، سویه جدیدی که دارای مقاومت بالا به فلز نیکل هست معرفی گردد ولی چهار سویه دیگر با توجه به ویژگی هایی که دارند می توانند انتخاب مناسبی برای تصفیه فاضلاب حاوی نیکل را دارند.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مسئولین فولاد مبارکه اصفهان و مسئولین آزمایشگاه دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد که ما را در انجام این مطالعه پشتیبانی کرده اند سپاسگزاری می نماییم.

کد اخلاق: ir.skums. irac.1396-37

References

1.Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Heavy metals toxicity and the environment. Mole Clin Environ Toxicol 2012; 101: 133-64.

2.Shabnam A. Heavy Metals the Environment. 1, editor2015.

3.Ayangbenro AS, Babalola OO. A new strategy for heavy metal polluted environments a review of microbial biosorbents. Int J Environ Res Publ Health2017; 14:23-9. PMID: Pmc5295344. eng.

4.Meybod S, Khorasani H. [Biodegradation of lead ion by Pseudomonas isolated from Khuzestan oil pollutants]. Sci Res Rep Water Sew2015; 26: 54-61.(Persian)

5.Javanbakht V, Alavi SA, Zilouei H. Mechanisms of heavy metal removal using microorganisms as biosorbent. Water Sci Technol 2014; 9:1775-87. PMID: 24804650. Epub 2014/05/09. eng.

6.Kiran MG, Pakshirajan K, Das G. Heavy metal removal from multicomponent system by sulfate reducing bacteria Mechanism and cell surface characterization. J Hazard Mate 2017;324:62-70. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.12.042

7.Zhao M, Xu Y, Zhang C, Rong H, Zeng G. New trends in removing heavy metals from wastewater. Appl Microbiol Biotechnol2016; 100: 6509-18. doi:10.1007/s00253-016-7646-x

8.Sharma V, Mishra RK. Biological methods for heavy metal decontamination A patent review. Rec Pat Biotechnol 2017;2:123-7. PMID: 28413994.Epub 2017/04/18. eng.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.4.13]

9.Gupta VK, Nayak A, Agarwal S. Bioadsorbents for remediation of heavy metals current status and their future prospects. Environ Eng Res 2015; 20: 1-18.doi.org/10.4491/eer.2015.018
10.Haq F, Butt M, Ali H, Chaudhary HJ. Biosorption of cadmium and chromium from water by endophytic Kocuria rhizophila equilibrium and kinetic studies. Desalina Water Treat2016; 57: 19946-58. doi: 10.1080/19443994.2015.1109561
11.Shahtaheri S,Afshari D.Occupational toxicology.1th ed.2015; P.124.
12.Irans Environmental Protection Agencys Sewage Exhaust Standard. 1993:1:1-89.
13.Association APH Association AWW Federation WPC Federation WE. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22th ed. Am Publ Health 2017; P.201-70.
14.Holla G, Yeluri R, Munshi AK. Evaluation of minimum inhibitory and minimum bactericidal concentration of nano silver base inorganic anti-microbial agentagainst streptococcus mutans. Contemp Clin Dent 2012 3: 288-93.doi: 10.4103/0976-237X.103620
15.Ghorbani F, Younesi. [Bioavailability of cadmium ions from aqueous solutions using Saccharomyces cerevisia biomass].Quarter J Water Sew Res 2008; 19: 33-9.(Persian)
16.Ozdemir G, Ceyhan N, Ozturk T, Akirmak F, Cosar T. Biosorption of chromium VI cadmium II and copper II by Pantoea sp. TEM18. Chem Eng J2004 2004; 102: 249-53.doi.org/10.1016/j.cej.2004.01.032
17.Samiyari F, Nazemi A, Nasrollahi Omran A. Isolation and molecular identification of nickel and cadmium resistant bacteria from industrial effluents of Guilan province. Biotechnol J Environ Microorgan 2012;6: 43-9.
18.Vos P, Garrity G, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, et al. Bergeys manual of systematic bacteriology. Springer Sci Bus Med 2011;3:81-6.
19.Zeng XX, Tang JX, Liu XD, Jiang P. Isolation identification and characterization of cadmium resistant Pseudomonas aeruginosa strain E1. J Cent South Uni Technol 2009; 16: 416-21. doi: 10.1007/s11771−009−0070−y
20.Elahian F, Moghimi B, Dinmohammadi F, Ghamghami M, Hamidi M, Mirzaei SA. The anticancer agent prodigiosin is not a multidrug resistance protein substrate. DNA Cell Biol2013 32: 90-7.doi: 10.1089/dna.2012.1902
21.Savvaidis I, Hughes MN, Poole RK. Copper biosorption by Pseudomonas cepacia and other strains. World J Microbiol Biotechnol2003; 19: 117-21.
22.Molazadeh P, Khanjani N, Rahimi MR, Nasiri A. Adsorption of lead by Microalgae Chaetoceros Sp. and Chlorella Sp. from aqueous solution. J Commun Health Res2015;4:114-27.
23.Nieto J, Fernandez R, Marquez M, Ventosa A, Quesada E, Ruiz F. Survey of metal tolerance in moderately halophilic eubacteria. Appl Environ Microbiol1989; 55: 2385-90.doi: 0099-2240/89/092385-06$02.00/0
24.Mubashar K, Faisal M.Uptake of toxic Cr VI by biomass of exo polysaccharides producing bacterial strains. Af J MicrobiolRes 2012; 6: 3329-36. doi: 10.5897/AJMR12.226
25.Jaishankar M, Tseten T, Anbalagan N, Mathew BB, Beeregowda KN. Toxicity mechanism and health effects of some heavy metals. Int Toxicol2014; 7: 60-72. doi: 10.2478/intox-2014-0009
26.Zouboulis AI, Loukidou MX, Matis KA. Biosorption of toxic metals from aqueous solutions by bacteria strains isolated from metal polluted soils. Proce Biochem 2004;39:909-16. doi:10.1016/S0032-9592(03)00200-0
27.Aldaghistani H. Bio remediation Of Cu Ni And Cr from rotogravure wastewater using immobilized dead and live biomass of indigenous thermophilic bacillus species. Int J Microbiol 2012; 10: 1-10.
28.Zahoor A, Rehman A. Isolation of Cr VI reducing bacteria from industrial effluents and their potential use in bioremediation of chromium containing wastewater. J Environ Sci 2009; 21: 814-20.doi:10.1016/S1001-0742(08)62346-3
29.Srivastava S, Thakur IS. Biosorption potency of Aspergillus niger for removal of chromium VI. Curr Microbiol 2006; 53: 232-7. doi:10.1007/s00284-006-0103-9
30.Gavrilescu M. Removal of heavy metals from the environment by biosorption.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.4.13]

Engineering in Life Sciences. 2004; 4: 219-32. doi:10.1002/elsc.200420026

31.Qu Y, Zhang X, Xu J, Zhang W, Guo Y. Removal of hexavalent chromium from wastewater using magnetotactic bacteria. Sep Pur Technol2014; 136: 10-7.doi:10.1016/j.seppur.2014.07.054

32.Taran M, Sisakhtnezhad S, Azin T. Biological removal of nickel II by Bacillus sp. KL1 in different conditions optimization by taguchi statistical approach. Polish J Chem Technol 2015; 17: 29-32. doi:10.1515/pjct-2015-0046

33.Ziagova MG, Koukkou AI, Liakopoulou M. Optimization of cultural conditions of Arthrobacter sp. Sphe3 for growth associated chromate VI reduction in free and immobilized cell systems. Chemosphere2014; 95: 535-40. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.09.112

34.Deng S, Ting YP. Characterization of PEI modified biomass and biosorption of CuII and PbII and NiII. Water Res2005; 39: 2167-77. doi:10.1016/j.watres.2005.03.033

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.4.13]

Investigation of Biological Removal of Nickel (II) Using the Isolated Bacteria from Industrial Wastewater of Mobarakeh Steel Complex in Isfahan

Sadeghi R[1], Sadeghi M[1], Abdizadeh R[2], Forouzandehshahraki S[1], Asadiamirabadi M[1]*

(Received: July 9, 2016 Accepted: November 28, 2015)

Abstract

Introduction: Heavy metals are among the most stable and non-degradable biological pollutants in the environment that can enter the water, soil, air, and therefore, the food chain. In recent years, biological methods, especially with the help of bacteria, have been used to remove heavy metals from industrial waste. The purpose of this study was to identify nickel-resistant (Ni) bacteria in the chemical refinery of Mobarakeh Steel Complex in Isfahan, Iran.

Materials & Methods: Samples of wastewater and sludge were evaluated regarding bacterial species and Ni (II)-resistance after dilution and transfer on the culture medium. Ni-resistant strain (II) and Micrococcus luteus SEHD031RS strains were selected for morphological and biochemical tests as well as Ni (II) removal, respectively.

Findings: This study showed that five strains had high Ni (II) resistance. Moreover, Micrococcus luteus SEHD031RS and Paenibacillus lautus SEHD031MRA strains showed the highest resistance to Ni (II) with growth at the concentrations of 110 and 90 mg/l, respectively. In this study, the highest nickel (II) removal rate was at pH 6 with a yield of 75.39% and the lowest nickel (II) removal rate was at pH 2 with a yield of 3.22% for Micrococcus luteus SEHD031RS strain. *Ethics code:* ir.skums. irac.1396-37

Discussion & Conclusions: It can be concluded that the detected strains can be suitable choices for Ni (II) removal from industrial wastewaters according to the features mentioned in this study.

Keywords: Bioremediation, Industrial wastewater, Minimum inhibitory concentration, Nickel (II)

1. Dept of Environmental Health Engineering, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
2. Dept of Medical Parasitology and Mycology, Faculty of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
**Corresponding author Email: rasulasadi70@gmail.com*

Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.4.13]