



## *Bacillus* sp. MGG-83

\*

: کاربرد Re-186 و Re-188 در پزشکی هسته‌ای به منظور درمان سرطان از سال ۲۰۰۰ به بعد اهمیت بسیار زیادی یافته است. بررسی‌ها نشان داده است که برخلاف فلزات دیگر تاکنون هیچ گزارشی علمی درباره جداسازی رنیوم به وسیله جذب زیستی، در مراجع معتبر علمی مشاهده نشده است. در این کار پژوهشی توان جذب رنیوم توسط باکتری جدید *Bacillus* sp. MGG-83 به طور مداوم در ارن مورد بررسی قرار گرفت و شرایط بهینه جذب مشخص شد. در بررسی اثر pH مشخص شد که pH بهینه جذب برای رنیوم برابر با ۲ بوده و دمای بهینه جذب، ۳۵-۴۰ °C بدست آمد. جذب رنیوم با افزایش غلظت آن در محیط افزایش یافت، بطوریکه در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم برلیتر مقدار جذب برابر با ۱۴۶/۳ میلی‌گرم برای هر گرم وزن خشک باکتری بود. جذب رنیوم در ۵ دقیقه اول مجاورت، سریع بود و در ادامه جذب، روند کندی از خود نشان داد. کاهش در مقدار  $V/X_0$  باعث افزایش جذب رنیوم شد که این پدیده به علت افزایش محل‌های سطحی اتصال است. در بررسی استفاده از اثر عوامل رهاساز، مشخص گردید دفع رنیوم که توسط محلول ۰/۱ مولار هیدروکسید سدیم در دمای ۲۵ °C صورت گرفت، ۵۵٪ رنیوم جذب شده از توده سلولی رها شد.

## *Bacillus* sp. MGG-83

### Biosorption of Rhenium by New Strain of *Bacillus* sp. MGG-83

S. Ghorbanzadeh Mashkani<sup>\*1</sup>, P. Tajer Mohammad Ghazvini<sup>1,2</sup>, H. Ghafourian<sup>1</sup>, M.A. Ahmadi<sup>1</sup>  
1- Department of Nuclear Biotechnology, Nuclear Science Research School, AEOI, P.O. Box: 11365-3486, Tehran - Iran  
2- Department of Microbiology, Faculty of Science, Azzahra University, Tehran - Iran

**Abstract:** One of the most important application of rhenium is its use in nuclear medicine. The recovery of rhenium via biosorption by micro-organisms, in contrast to other methods, has not been investigated yet. In the present study the biosorption of rhenium on *Bacillus* sp. MGG-83 in a batch of stirred system is reported, and its optimum condition has been determined. The optimum pH-value of the medium was found to be 2 for rhenium. The maximum biosorption of rhenium was obtained at a temperature between 35–40 °C. The rhenium take up increases by increasing the rhenium concentration, and for 250 mg/l the take up was 146.3 mg/g dry wt. The uptake of rhenium within 5 min of incubation is relatively rapid and the continuation of absorption behaves slowly thereafter. The reduction in the  $V/X_0$  value causes an increase of the adsorbed rhenium and that is due to the increase of the adsorption surface area. The desorption of rhenium which has been carried out with 0.1 M sodium hydroxide at 25 °C was 55%.

**Keywords:** *Bacillus*, Absorption, Bioadsorbents, Sorptive Properties, Rhenium, Microorganisms, Desorption, *Bacillus* sp. MGG-83

\*email: saeid\_ghm@yahoo.com



در این پژوهش از باکتری جدید *Bacillus sp. MGG-83* استفاده شده است؛ این باکتری قبلاً از تالاب انزلی جدا شده بود [۶].

سلولهای باکتریایی به درون ارلنهای ۱۰۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۲۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت (TSB (Difco)<sup>(۱)</sup> تلقیح و در دمای ۳۰°C به مدت ۲۴ ساعت و هوادهی ۱۵۰ بار در دقیقه گرمادهی شد. بعد از پایان مدت گرمادهی، توده سلولی توسط سانتریفوژ با سرعت دوران ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴°C جدا شده و سه بار با سرم فیزیولوژی (۰/۹ NaCl) شستشو داده شد. این توده سلولی به صورت مرطوب در دمای ۴°C برای آزمایشهای بعدی بکار رفت.

#### pH

برای مطالعه اثرهای pH و دما در جذب، توده سلولی *Bacillus sp. MGG-83* به محلولهای رنیوم با pHهای مختلف (بین ۲ و ۷) اضافه شد. این توده سلولی به فلاسکهای حاوی محلول فلزی اضافه شد و در دماهای مختلف (بین ۲۵ تا ۴۵°C) گرمادهی شد. مقدار غلظت رنیوم باقیمانده در محلول، بعد از جداسازی سلولها بوسیله سانتریفوژ، به وسیله دستگاه جذب اتمی با روش شعله (Varian Company, Spectra A220) اندازه‌گیری شد.

توده سلولی به محلولهای حاوی مقادیر مختلف رنیوم (۲۵ تا ۳۰۰ میلی‌گرم برلیتر) اضافه شد و بعد از گذشت مدت ۶۰ دقیقه، نمونه‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

برای بررسی اثر زمان تماس، توده سلولی به محلول فلزی اضافه شد و در زمانهای مختلف مقدار جذب رنیوم مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

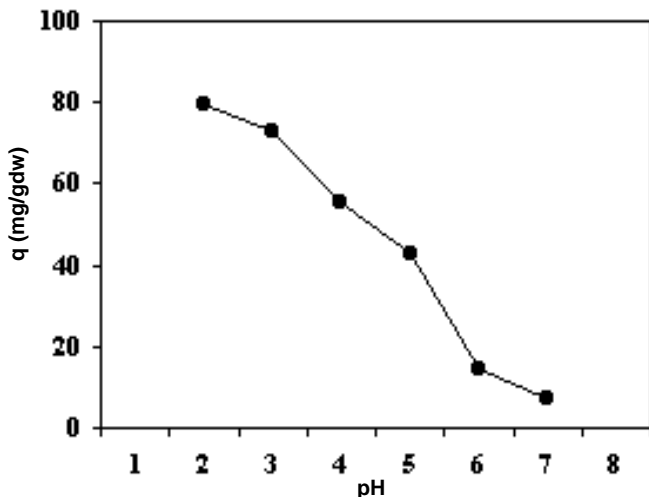
اثر مقدار توده سلولی با قرار دادن مقادیر مختلف توده سلولی (۵ تا ۴۰ میلی‌گرم وزن خشک) در مجاورت محلول فلزی مورد بررسی قرار گرفت.

یکی از کاربردهای بسیار مهم رنیوم استفاده از آن در پزشکی هسته‌ای است که در تشخیص سرطان، بررسی غدد درون‌ریز، بررسی رماتیسم مفصلی، درمان دردهای استخوانی و بررسی بیماریهای قلبی کاربرد دارد [۱]. رنیوم در طبیعت، بعنوان یک عنصر فوق‌العاده کمیاب «در حدود ۰/۰۰۱ mg/l» است و به این دلیل، همچنین ویژگی‌های ژئوشیمیایی خاص، هیچ کانی مستقلی تشکیل نداده و در طبیعت همراه با کانی‌های مولیبدن، به ویژه مولیبدنیت (به صورت جایگزین) موجود در کانسارهای مس-مولیبدن پرفیزی یافت می‌شود [۲]. لازم بذکر است که فراوانی رنیوم در مولیبدنیت معادن مس سرچشمه کرمان حدود ۷۰ mg/l بوده و با بررسی‌های بیشتر می‌توان از روش «زیست فناوری» انجام شده در این پژوهش، علاوه بر استفاده در علوم و فنون هسته‌ای در صنایع و معادن نیز از آن بهره جست. رنیوم از عناصر کمیابی است که کاربرد فراوان در صنایع نفت و تولید آلیاژهای مقاوم در برابر حرارت دارد. همچنین کاتالیزورهای رنیوم-پلاتین در تولید بنزین بدون سرب بکار می‌روند. کاربرد دیگر فلز رنیوم در تولید آلیاژهای مقاوم در برابر حرارت نیکل-رنیوم است که مصرف زیادی در ساخت موتور جت دارد [۲].

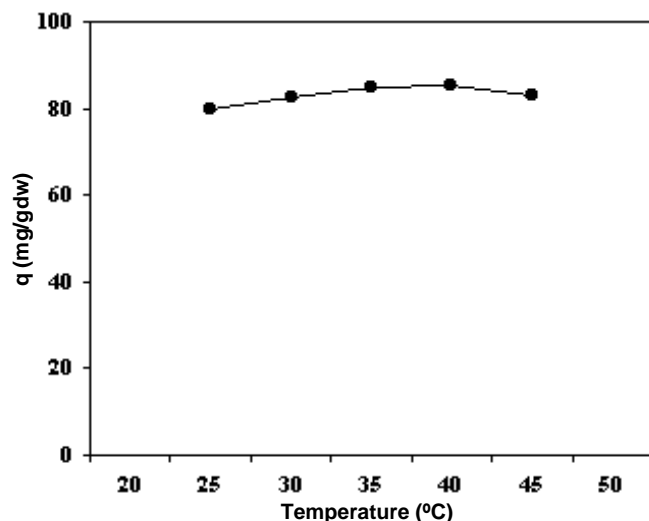
به دلیل کاربرد فراوان این فلز در زمینه‌های مختلف، بازیافت آن بسیار حایز اهمیت است. جداسازی رنیوم از محیط با روشهای فیزیکی و شیمیایی اغلب غیر مؤثر و بسیار پرهزینه بوده و مشکلات زیست محیطی زیادی ایجاد می‌کند. بنابراین یافتن فناوری جدیدی که ارزان و مؤثر بوده و اثرهای سوء زیست محیطی نداشته باشد لازم و ضروری است [۳]. این فناوری جدید، جذب زیستی فلزات است که اساس آن اتصال کاتیون یا آنیون فلزی به مکانهای اتصال مواد زیستی مانند دیواره سلولی، کپسول، پلی‌ساکاریدهای برون سلولی، پروتئین‌های سلولی و غیره است [۴]. واژه جذب زیستی برای توصیف برهمکنش یونهای موجود در محلول و مکانهای اتصال موجود در دیواره سلولی و پلیمرهای برون سلولی به کار می‌رود [۵].

تاکنون گزارشی مبنی بر استفاده از ریزسازواره‌ها برای جذب زیستی رنیوم عرضه نشده، همچنین هیچگونه نقش زیست‌شناختی برای رنیوم گزارش نشده است و اثر سمی آن بر سلول ریزسازواره‌ها مورد بررسی قرار نگرفته است. هدف از این پژوهش، مطالعه جذب زیستی رنیوم توسط باکتری جدید *Bacillus sp. MGG-83* بوده است.

اثر مقدار غلظت رنیوم بر جذب نیز مورد بررسی قرار گرفت. همانگونه که در شکل ۳ مشاهده می‌شود مقدار جذب ویژه رنیوم با افزایش غلظت رنیوم افزایش یافت تا جایی که وقتی غلظت رنیوم برابر با ۲۵۰ میلی‌گرم برلیتر بود بیشترین مقدار جذب ویژه حاصل شد که برابر با  $146/3 \text{ mg/gdw}$  است. این کیفیت نشان می‌دهد که جذب رنیوم وابسته به برهمکنش‌های الکترواستاتیکی (به ویژه برهمکنش‌های کووالانسی) است [۸].



اثر pH بر جذب رنیوم توسط *Bacillus sp. MGG-83* (دما برابر با  $30^\circ\text{C}$ ، غلظت رنیوم برابر با ۱۰۰ میلی‌گرم برلیتر، مقدار توده سلولی خشک برابر با  $0/75$  گرم برلیتر و هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه).



اثر دما بر جذب رنیوم توسط *Bacillus sp. MGG-83* (pH برابر با ۲، غلظت رنیوم برابر با ۱۰۰ میلی‌گرم برلیتر، مقدار توده سلولی خشک برابر با  $0/75$  گرم برلیتر و هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه).

برای این منظور ابتدا توده سلولی به مدت ۶۰ دقیقه با محلول  $100 \text{ mg/l}$  رنیوم مجاور شد. سپس سلولها توسط سانتریفوژ جدا شده و به مدت ۲۰ دقیقه با عوامل رهاساز هیدروکسید سدیم، اسید نیتریک، استات سدیم و کلرید سدیم  $0/1$  مولار مجاور شد.

شکل ۱ اثر pH را بر جذب رنیوم توسط باکتری *Bacillus sp. MGG-83* نشان می‌دهد. pH محیط، جذب رنیوم توسط سلولهای باکتری را تحت تأثیر قرار داد. pH بهینه محیط برای جذب رنیوم برابر با ۲ بود که مقدار جذب در این pH برابر با  $146/3 \text{ mg/gdw}$  است. دیواره سلولی شامل آمینها، آمیدها و گروههای کربوکسیلیک است که بسته به pH محیط دارای بار مثبت یا منفی می‌شوند. افزایش pH باعث افزایش بار منفی دیواره و در نتیجه افزایش جذب کاتیونها می‌شود اما هنگامیکه pH محیط کاهش می‌یابد بار مثبت به دیواره سلول القاء می‌شود که باعث افزایش جذب اُکسی‌آنیونها می‌شود [۷]. به دلیل اینکه رنیوم در محلول به صورت آنیون رنات می‌باشد بنابراین در pHهای اسیدی به آسانی به دیواره سلولی متصل می‌شود. مشخص شده است که یکی از مهمترین فاکتورها در فرایندهای جذب فلز، pH می‌باشد زیرا می‌تواند خواص شیمیایی محلول فلزی و گروههای فعال توده سلولی و اثرهای رقابتی بین یونها را تحت تأثیر قرار دهد [۷].

شکل ۲ نشان می‌دهد که افزایش دما در اثر گرمادهی به محیط جذب، تأثیر ناچیزی در جذب رنیوم توسط باکتری *Bacillus sp. MGG-83* دارد. بیشترین مقدار جذب رنیوم در محدوده دمایی  $35-40^\circ\text{C}$  بدست آمد. در دماهای بالا به نظر می‌رسد که انرژی سیستم باعث اتصال آسانتر یونهای فلزی به سطح سلول شود، اما هنگامیکه دما بیش از اندازه بالا می‌رود ممکن است کاهش جذب فلز مشاهده شود و این بدلیل تخریب مکانهای اتصال فلز است که باعث کاهش جذب سطحی می‌شود [۳]. دلیل دیگر افزایش در جذب رنیوم در دماهای بالا، تمایل بیشتر مکانهای اتصال فلز به فلز در توده سلولی، یا افزایش محلهای اتصال می‌باشد [۸].



قرار گرفتن محلهای اتصال سلول با فلز شوند و در نتیجه جذب کاهش یابد [۹].

- اثر زمان تماس بر روی جذب رنیوم توسط *Bacillus sp. MGG-83* (pH برابر با ۲، دما برابر با ۳۰°C، مقدار توده سلولی خشک برابر با ۰/۷۵ گرم برلیتر و هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه).

Time (min)	Rhenium		
	$q_{eq}$ (mg/gdw)	Adsorption (mg/l)	Adsorption (%)
5	52.9	39.7	39.7
15	55.2	41.4	41.4
30	60.3	45.2	45.2
60	67.2	50.4	50.4
90	75.1	56.3	56.3
120	79.7	59.8	59.8
180	80.3	60.2	60.2
240	85.9	64.4	64.4
360	90.0	67.5	67.5
1440	93.2	69.9	69.9

- مقادیر مختلف  $C_x$ ،  $C_{x,eq}$  و  $q_{eq}$  به دست آمده در نسبتهای متفاوت  $V/X_0$  توسط باکتری *Bacillus sp. MGG-83* در جذب رنیوم (pH برابر با ۲، دما برابر با ۳۰°C، حجم محلول فلزی برابر با ۳۰ میلی لیتر و هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه)، (a) 50، (b) 100، (c) 150 mg/l.

$X_0$ (g)	$V/X_0$ (l/g)	$C_0$ (mg/l)	$C_{eq}$ (mg/l)	$C_{x,eq}$ (mg/l)	$q_{eq}$ (mg/gdw)
(a) 0.005	6.0	50	42.3	7.7	46.2
0.007	4.3	50	40.8	9.2	39.4
0.01	3.0	50	37.6	12.4	37.2
0.015	2.0	50	35.6	14.4	28.8
0.02	1.5	50	32.3	17.7	26.6
0.04	0.75	50	28.9	21.1	15.8
(b) 0.005	6.0	100	75.6	24.4	146.4
0.007	4.3	100	70.9	29.1	124.7
0.01	3.0	100	66.8	33.2	99.6
0.015	2.0	100	63.9	36.1	72.2
0.02	1.5	100	57.6	42.4	63.6
0.04	0.75	100	52.9	47.1	35.3
(c) 0.005	6.0	150	124.5	25.5	153.0
0.007	4.3	150	120.1	29.9	128.1
0.01	3.0	150	115.3	34.7	104.1
0.015	2.0	150	105.9	44.1	88.2
0.02	1.5	150	96.7	53.3	79.95
0.04	0.75	150	86.5	63.5	47.6

$X_0$ : وزن خشک توده سلولی (g)

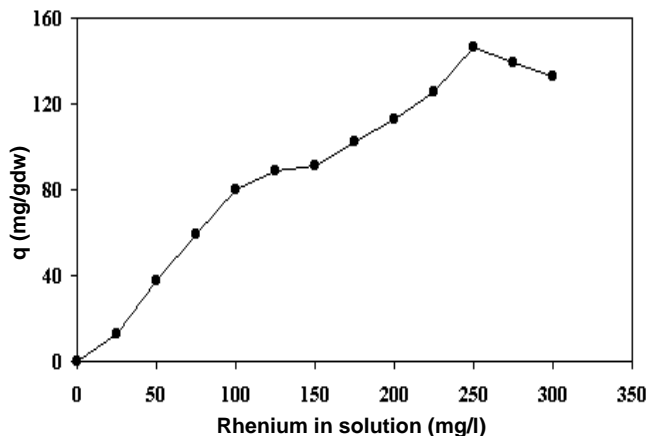
$V$ : حجم محلول فلزی مجاورسازی (l)

$C_0$ : مقدار فلز موجود در محلول قبل از مجاورسازی (mg/l)

$C_{eq}$ : مقدار فلز موجود در محلول بعد از مجاورسازی (mg/l)

$C_{x,eq}$ : مقدار فلز جذب شده توسط توده سلولی (mg/l)

$q_{eq}$ : ظرفیت جذب ویژه سلولی (mg/gdw)



- اثر غلظت رنیوم موجود در محیط بر جذب رنیوم توسط *Bacillus sp. MGG-83* (pH برابر با ۲، دما برابر با ۳۰°C، مقدار توده سلولی خشک برابر با ۰/۷۵ گرم برلیتر و هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه).

بطوری که در جدول ۱ مشاهده می شود با افزودن زمان تماس، مقدار رنیوم جذب شده توسط سلولها افزایش یافت. جذب رنیوم در ۵ دقیقه اول مجاورت سریع بود و در ادامه تماس، جذب با کندی صورت گرفت. جذب یونهای فلزی توسط ریزسازواره ها اغلب شامل دو فاز می باشد: فاز اولیه سریع که به علت جذب فیزیکی یا تبادل یونی فلز با سطح سلول می باشد که عموماً غیروابسته به متابولیسم بوده و به دنبال آن یک فاز آهسته تر که فلز جذب شده به دیواره سلولی بواسطه انتقال فعال وابسته به متابولیسم وارد سلول می شود. در این باکتری هر دو فاز مشاهده می شود (جدول ۱).

نسبتهای متفاوت  $V/X_0$ ، در اثر افزایش مقدار توده سلولی خشک و ثابت نگه داشتن غلظت اولیه محلول فلزی حاصل شد. تغییرات  $V/X_0$  همراه با جذب  $(C_x, eq)$  در غلظتهای متفاوت رنیوم توسط باکتری *Bacillus sp. MGG-83*، در جدول ۲ نشان داده شده است. بطوری که مشاهده می شود، کاهش در مقدار  $V/X_0$  باعث افزایش جذب رنیوم می شود که به دلیل افزایش مکانهای سطحی اتصال می باشد. تحقیقات نشان داده است که برهمکنش الکترواستاتیک بین سلولها ممکن است عامل مهمی در جذب فلز باشد. هنگامیکه سلولها از یکدیگر جدا باشند جذب فلز افزایش می یابد. وقتی مقدار باکتریها در محلول افزایش می یابد، تمایل به جمع شدن پیدا کرده و در نتیجه باعث کاهش مکانهای فعال اتصال می شوند و در نهایت جذب فلز کاهش می یابد [۸]. ممکن است غلظت زیاد توده سلولی از لایه های خارجی سلول تولید غربال مؤثری را بنماید که مانع در معرض



:

۱- TSB (Difco): Trypticase Soy Broth

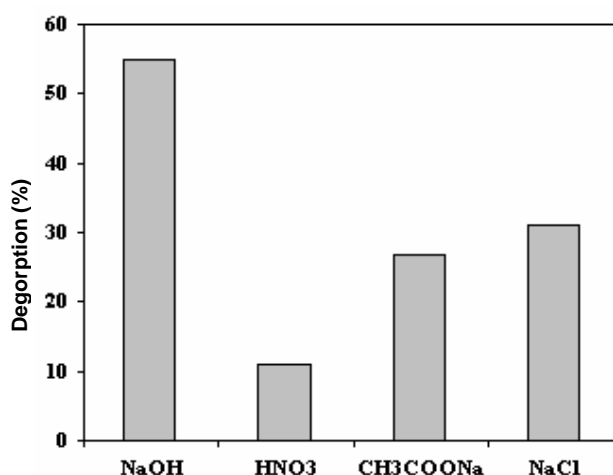
۲- V/ X<sub>0</sub>: حجم محلول مجاورسازی به وزن خشک توده سلولی

## References:

1. J. Vucina and R. Han, "Production and therapeutic use of rhenium-186, 188 the future of radionuclides," *Med Pregl.* **56**, 362-365 (2003).
2. م. قربانی، "دیباچه‌ای بر زمین‌شناسی اقتصادی ایران"، چاپ اول، سازمان زمین‌شناسی و اکتشاف معدن کشور (۱۳۸۱).
3. A.I. Zouboulis, M.X. Loukidou, K.A. Matis, "Biosorption of toxic metals from aqueous solutions by bacteria strains isolated from metal-polluted soils," *Process Biochemistry.* **39**, 909-916 (2004).
4. B. Volesky, "Biosorbent Materials," *Biotechnol. Bioeng. Symp.* **16**, 121-126 (1986).
5. T. Pumpel and K.M. Paknikar, "Bioremediation technology for metal containing waste water using metabolically active microorganisms," *Advance in microbiology*, **48**, 135-169(2001).
6. *Bacillus* sp. MGG-83 باکتری "جداسازی مشکانی"، قربانزاده مشکانی، "ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی (۱۳۸۳). از تالاب انزلی و تعیین قدرت جذب تنگستن"، پایان‌نامه کارشناسی
7. A. Lopez, N. Lazano, J.M. Priego, A.M. Marqus, "Effect of pH on the biosorption of Nickel and other heavy metals by *Pseudomonas fluoresces* 4F39," *J. Industrial. Microbiol & Biotechnol.* **24**, 146-151 (2000).
8. N. Goyal, S.C. Jain, U.C. Banerjee, "Comparative studies on the microbial adsorption of heavy metals," *Advances in Environmental Research.* **7**, 311-319 (2003).
9. F. Veglio and F. Beolchini, "Removal of metals by biosorption," *Hydrometallurgy.* **44**, 427-435 (1997).

بطوریکه در شکل ۴ مشاهده می‌شود، با استفاده از هیدروکسید سدیم ۰/۱ مولار به عنوان عامل رها ساز نسبت به عوامل رها ساز دیگر مانند اسید نیتریک، استات سدیم و کلرید سدیم با همین غلظت، بهترین نتیجه بدست آمد. دفع رنیوم از سلولها با محلول ۰/۱ مولار هیدروکسید سدیم در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد صورت گرفت، و در این بررسی مشخص شد که ۵۵٪ رنیوم جذب شده در سلولها قابل بازیافت است. چون جذب رنیوم واکنشی اندوترمیک است، می‌توان با کاهش دما مقدار بازجذب را افزایش داد.

جذب فلزات بوسیله مواد زیستی مناسب مانع نفوذ آنها به درون محیط می‌شود. ریزسازواره‌ها دامنه تماس وسیعی برای برهمکنش با فلزات موجود در محیطشان دارند. جذب زیستی در طی سالهای اخیر به طور وسیع و دامنه‌داری مورد توجه محققان قرار گرفته است، زیرا ریزسازواره‌ها پتانسیل جداسازی فلزات سنگین و سمی را از مکانهای آلوده و پسابهای صنعتی و فاضلابها دارند [۳]. در این پژوهش سعی شده است توان باکتری *Bacillus* sp. MGG-83 در جذب رنیوم بررسی شود. مطالعات انجام گرفته بر روی این باکتری نشان داد که بیشترین مقدار جذب رنیوم در pH=۲ و در مدت ۶۰ دقیقه و دمای ۴۰-۳۵°C حاصل می‌شود. با بررسی‌های بیشتر می‌توان از این باکتری در جذب رنیوم از محلولهای حاوی آن بهره جست و این روش برای این منظور روشی مناسب و کارآمد است.



- اثر عوامل رها ساز بر بازجذب رنیوم توسط *Bacillus* sp. MGG-83

(دما برابر با ۲۵°C، مقدار توده سلولی خشک برابر با ۰/۷۵ گرم برلیتر و هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه).