بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده : مهندسی معدن، نفت و ژئوفیزیک
گروه : اکتشاف، نفت و ژئوفیزیک

جذب بیولوژیکی یون های فلزی مس و منگنز از زهاب اسیدی معدن مس سرچشمه توسط دو گونه قارچ بومی *آسپرژیلوس نایجر* و *فنروکیت کریزوزپوریوم*

دانشجو : هانیه سلیمانی فر

اساتید راهنما :
دکتر فرامرز دولتی ارده جانی
دکتر رضا مرندی

پایان نامه ارشد جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

ماه و سال انتشار : بهمن ۱۳۸۸

دانشگاه صنعتی شاهرود

دانشکده : مهندسی معدن، نفت و ژئوفیزیک

گروه : اکتشاف، نفت و ژئوفیزیک

پایان نامه کارشناسی ارشد خانم هانیه سلیمانی فر

تحت عنوان: جذب بیولوژیکی یون های فلزی مس و منگنز

از زهاب اسیدی معدن مس سرچشمه

توسط دو گونه قارچ بومی *آسپرژیلوس نایجر* و *فنروکیت کریزوزپوریوم*

در تاریخ ۱۳۸۸/۱۱/۱۴ توسط کمیته تخصصی زیر جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد مورد ارزیابی و با درجه عالی مورد پذیرش قرار گرفت.

اساتید راهنما	امضاء	اساتید مشاور	امضاء
نام و نام خانوادگی : فرامرز دولتی		نام و نام خانوادگی :	
نام و نام خانوادگی : رضا مرندی		نام و نام خانوادگی :	

اساتید داور	امضاء	نماینده تحصیلات تکمیلی	امضاء
نام و نام خانوادگی : خشایار بدیعی		نام و نام خانوادگی :	
نام و نام خانوادگی : بهناز دهر آزما		ابوالقاسم کامکار روحانی	

تقدیم به مادر و پدرم،

که پشتوانه های من در زندگیم هستند و در سطرها و صفحه ها نمی گنجند

و

همسرم،

که سنگ صبور لحظه های دشوار زندگیم است.

از استاد ارجمندم جناب آقای دکتر دولتی، که روش تحقیق و گام نهادن در عرصه پژوهش را به من آموخت، کمال تشکر را دارم.

از استاد گرامی جناب آقای دکتر مرندی، که دریچه ای نو از دانش بیوتکنولوژی را به روی من گشود، سپاس‌گزارم.

از استاد صبورم سرکار خانم سیده فلور مظهر، که بی کم و کاست آنچه می دانست را در اختیارم نهاد، تا بدانم که زکات علم آموختن آن است، یارای سپاس ندارم.

دانشجو تأیید می نماید که مطالب مندرج دراین پـایان نامه نتیجه تحقیقات خودش می باشد و در صورت استفاده از نتایج دیگران مرجع آن را ذکر نموده است.

کلیه حقوق مادی مترتب از نتایج مطالعات ، آزمایشات و نو آوری ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد .

بهمن ۸۸

چکیده

زهاب اسیدی معدن (AMD)، که حاوی غلظت های بالای فلزات سنگین است منجر به ایجاد مشکلات زیست محیطی بسیاری می گردد. AMD زمانی اتفاق می افتد که کانی های حاوی سولفید در معرض آب و هوا قرار گیرند و سولفید موجود در آنها تبدیل به اسید سولفوریک گردد که فلزات سنگین را در خود حل می کند. غلظت یون های فلزی مس و منگنز در زهاب معدن مس سرچشمه واقع در جنوب شرقی ایران، بالا می باشد. در این مطالعه، جذب بیولوژیکی یون های فلزی مس و منگنز از زهاب معدن مس سرچشمه با استفاده از دو گونه قارچ بومی به نام های آسپرژیلوس نایجر (.As) و فنروکیت کریزوزپوریوم (.Ph) مورد بررسی قرار گرفت، سپس قدرت جذب این دو گونه قارچی با یکدیگر مقایسه شد. بایومس قارچی مورد استفاده پس از جوشاندن در محلول سود ۰/۵ نرمال، تحت دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ خشک گردیده و پودر شد. پارامترهای بهینه جذب نظیرpH، دما، میزان جاذب، مدت زمان تماس و دور شیکر در سیستم پیوسته تعیین گردید. pH بهینه جذب بین ۵ و ۶ به دست آمد. افزایش میزان جاذب و دما، اثر مستقیم بر روی جذب فلز داشت. افزایش دور شیکر، جذب توسط قارچ .As را افزایش داده در حالی که این روند برای قارچ .Ph در دورهای بالاتر از rpm ۱۵۰ روند معکوس داشت. ایزوترم جذب در شرایط بهینه با مدل های جذب لانگمویر و فرندلیچ مطابقت داده شد که تطابق بیشتری با مدل لانگمویر داشت.

سینتیک واکنش جذب بررسی شد. نتایج نشان داد که مدل سینتیک مرتبه دوم با داده های تجربی تطابق خوبی دارد. جذب توسط سیستم پیوسته نیز به منظور بررسی میزان جذب و مقایسه دو سیستم پیوسته و ناپیوسته انجام شد و نتایج با مدل جذبی Yoon-Nelson تطابق خوبی داشت. عملیات واجذبی نیز به منظور استفاده مجدد از بایومس و بازیافت فلز مورد آزمایش قرار گرفت. آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم، جاذب های مناسبی برای جذب فلزات سنگین از زهاب اسیدی معدن شناخته شدند.

کلمات کلیدی: زهاب اسیدی معدن- جذب بیولوژیکی- سیستم پیوسته- سیستم ناپیوسته- آسپرژیلوس نایجر- فنروکیت کریزوزپوریوم.

لیست مقالات مستخرج از پایان نامه

دولتی ارده جانی. فرامرز، مرندی. رضا، سلیمانی فر. هانیه (۱۳۸۸). استخراج یون های مس و منگنز از آب زهکش اسیدی با استفاده از گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر، فصل نامه علمی-پژوهشی علوم و تکنولوژی محیط زیست (در نوبت چاپ)

فهرست مطالب

عنوان شماره صفحه

فصل اول کلیات ۱

۱-۱ مقدمه ۲

۱-۲ مروری بر کارهای دیگران ۴

۱-۳ ضرورت انجام تحقیق ۶

۱-۴ هدف از انجام تحقیق ۷

۱-۵ سازماندهی پایان نامه ۷

۱-۶ فلزات سنگین ۸

۱-۶-۱ منابع آلوده کننده محیط زیست به فلزات ۹

۱-۷ معدن مس سرچشمه کرمان ۱۴

۱-۷-۱ تاریخچه ۱۵

۱-۷-۲ زمین‌شناسی عمومی منطقه ۱۶

۱-۷-۳ دگرسانی‌ها ۱۶

۱-۷-۴ ذخیره و استخراج معدن ۱۷

۱-۷-۵ موقعیت مس در ایران و آسیا ۱۸

۱-۷-۶ بررسی آلودگی آب رودخانه شور مجتمع مس سرچشمه ۱۸

۱-۷-۷ بررسی اثرات زیست‌محیطی استخراج و فرآوری مواد معدنی در معدن مس سرچشمه۱۸

۱-۷-۸ بررسی اثرات زیست‌محیطی زهاب اسیدی در معدن مس سرچشمه ۱۹

۱-۸ زهاب اسیدی معدن(AMD) ۲۰

۱-۸-۱ منابع خنثی سازی ۲۴

۱-۸-۲ آثار مخرب AMD ۲۵

۱-۹ تصفیه زهاب های اسیدی معدن ۲۷

۱-۹-۱ سیستم های تصفیه فعال ۲۷

۱-۹-۲ روش های تصفیه غیر فعال ۳۰

فصل دوم تئوری ۳۳

۲-۱ بیوتکنولوژی ۳۴
۲-۲ میکروبیولوژی ۳۶
۲-۲-۱ تاریخچه ۳۶
۲-۲-۲ پیشرفت های میکروبیولوژی در قرن بیستم..... ۳۷
۲-۳ مکانیسم عمل میکروارگانیسم ها جهت تصفیه فلزات ۳۸
۲-۴ پدیده جذب زیستی ۳۹
۲-۴-۱ عوامل موثر در جذب بیولوژیکی ۴۰
۲-۴-۲ علل برتری روش های بیولوژیکی در حذف فلزات سنگین نسبت به روش های شیمیایی ۴۱
۲-۴-۳ خصوصیات جاذب..... ۴۱
۲-۴-۴ مزایای جذب بیولوژیکی..... ۴۱
۲-۵ قارچ ها ۴۲
۲-۵-۱ خصوصیات کلی قارچ ها ۴۲
۲-۵-۲ ترکیبات موجود در قارچ ۴۳
۲-۵-۳ ساختار رویشی قارچ ها..... ۴۳
۲-۵-۴ مکانیسم جذب ۴۴
۲-۵-۵ آسپرژیلوس ۴۴
۲-۵-۶ قارچ Phanerochaete chrysosporium ۴۶
۲-۶ انواع روش های کشتن میکرواورگانیسم ها..... ۴۹
۲-۷ تجهیزات و آرایش فرآیند ۴۹
۲-۷-۱ راکتورهای ناپیوسته با همزن..... ۵۰
۲-۷-۲ راکتورهای جریان پیوسته ۵۰
۲-۷-۳ راکتورهای با بستر ثابت ۵۰
۲-۸ بهینه سازی روش جذب بیولوژیکی ۵۱
۲-۸-۲ روش های تثبیت سلولی..... ۵۳
۲-۸-۳ تثبیت میکرواورگانیسم در بستر(کلسیم آلژینات) ۵۳

۲-۹ روش ها و وسایل اندازه گیری فلزات در نمونه های بیولوژیکی و شیمیایی ۵۴
۲-۹-۱ روش های تجزیه وزنی ۵۵
فصل سوم مواد و روش ها ۵۹
۳-۱ آنالیز زهاب ۶۰
۳-۱-۱ سختی آب ۶۰
۳-۱-۲ قلیائیت ۶۳
۳-۱-۳ تعیین اکسیژن محلول در آب ۶۵
۳-۱-۴ سنجش میزان کدورت آب ۶۷
۳-۱-۵ اکسیژن مورد نیاز بیوشیمیایی(BOD) ۶۸
۳-۱-۶ تعیین pH زهاب ۷۰
۳-۱-۷ اندازه گیری فلزات توسط دستگاه جذب اتمی ۷۱
۳-۲ تهیه بایومس ۷۲
۳-۲-۱ ساخت محیط کشت جامد (اسلنت) برای قارچ ۷۲
۳-۲-۲ ساخت محیط کشت مایع(براث) ۷۴
۳-۲-۳ طرز تهیه سوسپانسیون قارچی جهت تلقیح به محیط کشت ۷۵
۳-۲-۴ صاف کردن توده قارچی ۷۷
۳-۲-۵ کشتن بایومس قارچی ۷۷
۳-۲-۶ خشک کردن و آماده کردن بایومس ۷۷
۳-۲-۷ بررسی عدم آلودگی ۷۸
۳-۳ تعیین پارامترهای بهینه جذب در سیستم ناپیوسته ۸۰
۳-۳-۱ بررسی اثر تغییرات pH بر روی جذب ۸۰
۳-۳-۲ بررسی اثر زمان تماس ۸۱
۳-۳-۳ بررسی اثر تغییرات دما و دور شیکر ۸۱
۳-۳-۴ بررسی اثر تغییر غلظت جاذب ۸۱
۳-۳-۵ تعیین میزان جذب فلز توسط بایومس قارچی ۸۲
۳-۳-۶ عملیات دفع و بازیافت مجدد میکرواورگانیسم های استفاده شده ۸۲

۳-۳-۷ بررسی ایزوترم های جذب سطحی ۸۲
۳-۳-۸ بررسی سینتیک جذب ۸۵
۳-۴ بررسی عملیات جذب در سیستم پیوسته ۸۶
۳-۴-۱ روش تثبیت سلول های قارچی بر روی بستر آلژینات ۸۶
۳-۴-۲ آماده سازی ستون جهت انجام عملیات جذب ۸۷
۳-۴-۳ تهیه شاهد در سیستم جذب پیوسته ۸۸
۳-۴-۴ عملیات دفع فلز و بازیافت بایومس ۸۸
۳-۴-۵ مدل سازی داده های ستون (عملیات پیوسته) ۸۹
فصل چهارم محاسبه و استخراج نتایج ۹۰
۴-۱ نتایج آزمایشات آنالیز زهاب ۹۱
۴-۲ نتایج جذب در سیستم ناپیوسته ۹۲
۴-۲-۱ اثر تغییرات pH ۹۲
۴-۲-۲ اثر زمان تماس ۹۳
۴-۲-۳ اثر تغییرات دما در جذب ۹۵
۴-۲-۴ اثر تغییرات دور شیکر(سرعت اختلاط) ۹۶
۴-۲-۵ اثر تغییرات غلظت بایومس ۹۷
۴-۲-۶ نتایج عملیات دفع و بازیافت ۹۸
۴-۲-۷ ایزوترم های جذب سطحی ۹۸
۴-۲-۸ بررسی سینتیک واکنش جذب در سیستم ناپیوسته ۱۰۳
۴-۳ نتایج حاصل از مدل سازی سیستم پیوسته ۱۰۷
۴-۳-۱ بررسی تاثیر سرعت ورود زهاب بر روی فرآیند جذب ۱۰۹
۴-۳-۲ بررسی اثر تداخل یون های موجود در زهاب بر روی کارکرد ستون و میزان جذب بایومس ۱۱۰
۴-۳-۳ بررسی عملیات دفع و بازیابی بایومس – آلژینات در بستر ثابت ۱۱۲
۴-۳-۴ بررسی اثر شاهد ۱۱۳
۴-۴ مقایسه عملیات جذب بیولوژیکی در سیستم ناپیوسته و پیوسته ۱۱۳

فصل پنجم نتیجه گیری و پیشنهادات ۱۱۴
۵-۱ نتایج ۱۱۵
۵-۲ پیشنهادات ۱۱۶
منابع ۱۱۷

فهرست اشکال

عنوان شماره صفحه

شکل (۱-۱) شمایی از توده پورفیری در معدن مس سرچشمه ۱۶
شکل (۱-۲) نمای کلی از معدن مس سرچشمه کرمان ۱۷
شکل (۲-۱) تصویر میکروسکوپی از قارچ Phanerochaete chrysosporium ۴۶
شکل (۲-۲) میسلیوم در قارچ Phanerochaete chrysosporium ۴۸
شکل (۲-۳)گویچه های آلژینات ۵۴
شکل (۳-۱) دستگاه pH متر ۷۰
شکل (۳-۲) دستگاه جذب اتمی ۷۱
شکل (۳-۳) دستگاه اتوکلاو مورد استفاده ۷۳
شکل (۳-۴) نمونه اسلنت قارچی ۷۴
شکل (۳-۵) دستگاه اسپکتروفتومتر ۷۵
شکل (۳-۶) شیکر انکوباتور ۷۶
شکل (۳-۷) توده قارچی رشد داده شده ۷۶
شکل (۳-۸) آون ۷۸
شکل (۳-۹) بایومس پودری تهیه شده ۷۸
شکل (۳-۱۰) شیکر ۸۱
شکل (۳-۱۱) جداکردن بایومس از زهاب برای ارسال به دستگاه جذب اتمی ۸۲
شکل (۳-۱۲) نحوه آماده سازی گویچه های آلژینات-بایومس ۸۷
شکل (۳-۱۳) نمایی از ستون در عملیات پیوسته ۸۸
شکل (۴-۱) اثر تغییرات pH بر روی جذب مس توسط آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم ۹۳
شکل (۴-۲) اثر تغییرات pH بر روی جذب منگنز توسط آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم ۹۳
شکل (۴-۳) اثر زمان تماس بر روی جذب بیولوژیکی مس توسط آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم ۹۴

شکل (۴-۴) اثر زمان تماس بر روی جذب بیولوژیکی منگنز توسط آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم ۹۵
شکل (۴-۵) اثر تغییرات دما بر میزان جذب مس توسط دو گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم ۹۵
شکل (۴-۶) اثر تغییرات دما بر میزان جذب منگنز توسط دو گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم ۹۶
شکل (۴-۷) اثر تغییرات دور شیکر بر میزان جذب مس توسط دو گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم ۹۶
شکل (۴-۸) اثر تغییرات دور شیکر بر میزان جذب منگنز توسط دو گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم ۹۷
شکل (۴-۹) اثر تغییرات بایومس (جاذب) در جذب سطحی مس توسط دو گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم ۹۷
شکل (۴-۱۰) اثر تغییرات بایومس (جاذب) در جذب سطحی منگنز توسط دو گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم ۹۸
شکل (۴-۱۱) ایزوترم لانگمویر برای جذب فلز مس توسط .As ۹۹
شکل (۴-۱۲) ایزوترم لانگمویر برای جذب فلز مس توسط .Ph ۱۰۰
شکل (۴-۱۳) ایزوترم لانگمویر برای جذب فلز منگنز توسط .As ۱۰۰
شکل (۴-۱۴) ایزوترم لانگمویر برای جذب فلز منگنز توسط .Ph ۱۰۰
شکل (۴-۱۵) ایزوترم فرندلیچ برای جذب بیولوژیکی مس توسط .As ۱۰۱
شکل (۴-۱۶) ایزوترم فرندلیچ برای جذب بیولوژیکی مس توسط .Ph ۱۰۲
شکل (۴-۱۷) ایزوترم فرندلیچ برای جذب بیولوژیکی منگنز توسط .As ۱۰۲
شکل (۴-۱۸) ایزوترم فرندلیچ برای جذب بیولوژیکی منگنز توسط .Ph ۱۰۲
شکل (۴-۱۹) بررسی سینتیک واکنش جذب یون فلزی مس توسط .As (معادله شبه مرتبه اول) ۱۰۳
شکل (۴-۲۰) بررسی سینتیک واکنش جذب یون فلزی مس توسط .Ph (معادله شبه مرتبه اول) ۱۰۴
شکل (۴-۲۱) بررسی سینتیک واکنش جذب یون فلزی منگنز توسط .As (معادله شبه مرتبه اول) ۱۰۴

شکل (۴-۲۲) بررسی سینتیک واکنش جذب یون فلزی منگنز توسط .Ph (معادله شبه مرتبه اول) ۱۰۴
شکل (۴-۲۳) بررسی سینتیک واکنش جذب یون فلزی مس توسط .As (معادله شبه مرتبه دوم) ۱۰۵
شکل (۴-۲۴) بررسی سینتیک واکنش جذب یون فلزی مس توسط .Ph (معادله شبه مرتبه دوم) ۱۰۵
شکل (۴-۲۵) بررسی سینتیک واکنش جذب یون فلزی منگنز توسط .As (معادله شبه مرتبه دوم) ۱۰۶
شکل (۴-۲۶) بررسی سینتیک واکنش جذب یون فلزی منگنز توسط .Ph (معادله شبه مرتبه دوم) ۱۰۶
شکل (۴-۲۷) جذب بیولوژیکی مس توسط .As در بستر ثابت، دبی ورودی ۶ میلی لیتر در دقیقه ۱۰۸
شکل (۴-۲۸) جذب بیولوژیکی مس توسط .Ph در بستر ثابت، دبی ورودی ۶ میلی لیتر در دقیقه ۱۰۸
شکل (۴-۲۹) جذب بیولوژیکی منگنز توسط .As در بستر ثابت، دبی ورودی ۶ میلی لیتر در دقیقه ۱۰۸
شکل (۴-۳۰) جذب بیولوژیکی منگنز توسط .Ph در بستر ثابت، دبی ورودی ۶ میلی لیتر در دقیقه ۱۰۹
شکل (۴-۳۱) بررسی تاثیر دبی زهاب ورودی بر روی جذب منگنز توسط .As ۱۱۰
شکل (۴-۳۲) جذب بیولوژیکی مس از محلول فلزی ساختگی توسط .As در بستر ثابت، دبی ورودی ۶ میلی لیتر در دقیقه ۱۱۱
شکل (۴-۳۳) جذب بیولوژیکی مس از محلول فلزی ساختگی توسط .Ph در بستر ثابت، دبی ورودی ۶ میلی لیتر در دقیقه ۱۱۱

فهرست جداول

عنوان شماره صفحه

جدول (۱-۱) حداکثر میزان مجاز مواد آلوده کننده در فاضلاب معدنی ۱۰
جدول (۱-۲) انواع مواد معدنی بر اساس شدت آلودگی ۱۱
جدول (۱-۳) ویژگی های مس ۱۲
جدول (۱-۴) ویژگی های منگنز ۱۳
جدول (۱-۵) تاریخ‌راه‌اندازی واحدهای مختلف مجتمع مس سرچشمه ۱۵
جدول (۲-۱) مواد زمینه تثبیت کننده مورد استفاده برای مطالعه جذب فلزات ۵۲
جدول (۴-۱) نتایج آزمایشات زهاب ۹۱
جدول (۴-۲) میزان یون های فلزی موجود در زهاب ۹۱
جدول (۴-۳) ثوابت و رگرسیون های خطی مدل جذبی لانگمویر برای جذب یون های فلزی مس و منگنز توسط دو گونه قارچی .As و .Ph ۱۰۱
جدول(۴-۴) ثوابت و رگرسیون های خطی مدل جذبی فرندلیچ برای جذب یون های فلزی مس و منگنز توسط دو گونه قارچی .As و .Ph ۱۰۳
جدول (۴-۵) ثوابت سرعت و رگرسیون های خطی مدل شبه مرتبه اول لاگرگرین ۱۰۵
جدول (۴-۶) ثوابت سرعت و رگرسیون های خطی مدل شبه مرتبه دوم لاگرگرین ۱۰۶
جدول (۴-۷) پارامترها و ضرایب رگرسیون مدل جذبی Yoon-Nelson ۱۰۹
جدول (۴-۸) پارامترها و ضرایب رگرسیون مدل جذبی Yoon-Nelson برای جذب از زهاب مصنوعی ۱۱۱
جدول (۴-۹) مقایسه پارامترهای مدل برای زهاب طبیعی و مصنوعی ۱۱۲

فصل اول

کلیات

۱-۱ مقدمه

محیط زیست از ارکان توسعه پایدار در هر کشوری است. بدون توجه به مسئله محیط زیست منابع طبیعی و انسانی دچار نقصان شده و پیامدهای ناگواری را بر کره خاکی و حتی جوامع انسانی خواهد گذاشت. معدنکاری مواد لازم برای حیات و پیشرفت بشر را فراهم می کند و از طرفی با افزایش آلودگی ها امکان حیات و استفاده از محیط زیست سالم را از بشر سلب می کند. به همین جهت در بسیاری از کشورها، تأثیرات زیست محیطی عملیات معدنکاری مورد بررسی قرار گرفته و در نهایت استانداردهایی در این زمینه برای فعالیت های معدنی و حدود آلودگی های مختلف حاصل از این صنعت در نظر گرفته شده است [۱].

فلزات سنگین از طریق زنجیره غذایی وارد بدن انسان شده و اختلالات عصبی، ژنتیکی، کم کاری کلیه ها و تخریب بافت های استخوان را به دنبال دارد. معادن، کارخانه های ذوب و احیاء فلزات، آفت کش ها و قارچ کش ها، صنایع آبکاری، صنایع نساجی، کارخانه های ساخت سرامیک و شیشه، نیروگاه ها، فاضلاب ها و پساب های شهری، مواد رادیو اکتیوی وزهاب های کشاورزی برخی از صنایع تولید کننده فلزات سنگین می باشند [۳ و۲].

اکثر فلزات سنگین نمک های محلول در آب را تشکیل می دهند در نتیجه با روش های فیزیکی معمولی قابل جداسازی نیستند. روش های سنتی تصفیه فاضلاب اغلب، نیاز به دستگاه ها و مواد گران قیمت داشته و تولید لجن سمی می کنند. بازدهی این روش ها نسبت به روش های بیولوژیکی، پایین است.

جذب بیولوژیکی، به حالت های زیادی از جذب فلز توسط بایومس اطلاق می شود که ممکن است حتی مرده باشد. جداسازی فلز توسط بخش های مختلف سلول از طریق فرآیند هایی نظیر تشکیل کمپلکس، تعویض یونی و جذب سطحی انجام می شود. میکروارگانیسم ها با فلزات تداخل نموده و آنها را از یک فرم شیمیایی به فرم دیگر تغییر می دهند که این عمل باعث افزایش تحرک آلاینده و

جذب راحت تر آن می گردد. جذب فلزات توسط میکروارگانیسم مرده، از نوع جذب زیستی[1] است که در آن، میکروارگانیسم، ذرات فلزی را به دیواره خود جذب نموده و این عمل مستقل از فرآیند متابولیسمی است. از میان میکروارگانیسم هایی که قادر به جذب فلزات سنگین هستند مانند باکتری، قارچ، مخمر، جلبک و ...، قارچ ها جاذب های قوی تری می باشند. روش هایی مثل جوشاندن در سود ، فرمالدئید و اسید همچنین اتوکلاو کردن از روش های موجود در کشتن میکروب است . حذف انتخابی فلزات در غلظت های پایین، زمان جذب و حذف کوتاه تر، سادگی در عملکرد، استفاده مقدار کم جاذب در جذب غلظت های بالای فلز، امکان استفاده مجدد بایومس برای عملیات جذب، دلایل استفاده گسترده از این روش در تصفیه فاضلاب می باشد [۴].

مس، یکی از فلزات پرکاربرد در صنعت است که در لیست آلاینده های موجود در فاضلاب که در سال ۱۹۷۸ توسط آژانس حفاظت از محیط زیست ایالات متحده امریکا (USEPA) منتشر شده، آمده است. درصنایع آبکاری و پردازش فلز، غلظت Cu^{2+}، به ۱۰۰-۱۲۰mg/L می رسد که در مقایسه با استانداردهای کیفیت آب مقدار خیلی بالایی است و باید به ۱ تا ۱/۵ mg/L برسد. مطالعات بسیاری روی جذب بیولوژیکی مس صورت گرفته که عمده آنها روی جذب مس از پساب مصنوعی انجام شده است [۵].

منگنز یکی از فلزات موجود در زهاب اسیدی معدن است که طبق استانداردهای موجود، غلظت آن در زهاب خروجی نباید از ۱ppm بیشتر باشد. مقادیر بیشتر از استاندارد، موجب به خطر افتادن سلامت موجودات زنده می گردد. تحقیقات در مورد جذب بیولوژیکی منگنز، نادر است.

هدف از این تحقیق، حذف یون های فلزی مس و منگنز از زهاب معدن مس سرچشمه کرمان واقع در جنوب ایران توسط دو گونه قارچ بومی منطقه (Phanerochaete chrysosporium و Aspergillus niger) و مقایسه قدرت جذب آنها، تعیین شرایط بهینه جذب و بررسی مدل ها و ایزوترم های جذب

[1] Biosorption

می باشد. برای این کار، به دلیل عدم تداخل فرآیند تکثیر و جذب، از میکروارگانیسم مرده استفاده گردید.

ابتدا برای تعیین شرایط بهینه جذب، عملیات جذب بیولوژیکی در سیستم ناپیوسته[۱] انجام شد سپس تحت شرایط بهینه به دست آمده، میزان جذب در شرایط پیوسته[۲] تعیین گردید. عملیات واجذب[۳] انجام شده و از میکروارگانیسم استفاده شده در عملیات جذب مجددا استفاده گردید.

۱-۲ مروری بر کارهای دیگران

ولسکی[۴] در کتاب خود با عنوان "جذب بیولوژیکی فلزات سنگین" آورده است که یکی از اولین افرادی که در زمینه جذب بیولوژیکی فلزات فعالیت کرده، روتستین[۵] و همکارانش در سال ۱۹۴۸ بوده اند. آنها شواهدی ارائه نمودند که اورانیوم روی سطح مخمر از طریق تشکیل کمپلکس با گروه های ناشناخته مرتبط با متابولیسم گلوکز، جذب می شود.

مفهوم جذب بیولوژیکی در ۱۹۴۹ توسط راچهوفت[۶] کسی که موفق به حذف $Pu^{۲۳۹}$ از آب، توسط لجن فعال شده گردید، به کار برده شد. او ۶۰ درصد حذف را در یک مرحله تصفیه انجام داد.

پولی کارپوف[۷] در مطالعاتش روی رادیواکولوژی ارگانیسم های آبی، اشاره کرد که رادیونوکلئیدهایی (انواع اتم هایی که حاوی پروتون، نوترون و مقداری انرژی می باشند) که در محیط های آبی موجودند توسط میکرو ارگانیسم های دریایی از طریق "جذب سطحی مستقیم از آب" جمع آوری می شوند. وی اشاره کرد که ویژگی بالا کاملاً مجزا از وظیفه زیستی سلول ها می باشد. تعداد زیادی از میکرو ارگانیسم ها، زنده یا مرده، این ویژگی را دارند [۴].

---

[۱] Batch
[۲] Continuos
[۳] Desorption
[۴] Volesky
[۵] Rothstein
[۶] Ruchhoft
[۷] Policarpov

تحقیقات زیادی در زمینه جذب بیولوژیکی فلزات از زهاب های مصنوعی انجام شده که لیستی از این کارها در زیر آمده است:

بوریج[۱] و کاوال[۲] توسط نوعی باکتری به نام E.coli اقدام به حذف فلزات سنگین از زهاب مصنوعی نمودند که نتایج کار آنها در زیر آمده است [۴]:

- حذف مقادیر قابل توجه (بیشتر از ۰/۹ میکرو مول در میلی گرم وزن خشک) Os و Hf
- حذف مقادیر متوسط(۰/۱ تا ۰/۴) Ce^{4+}، Co، Mg، Mo، Mn، Fe^{3+}، Sr، Zn و Pb
- حذف مقادیر کم (کمتر از ۰.۱) In، Au، Pd، Hg، Ni، Ru، Fe، U، Sm، Pr، La، Sc، Cu، Sr، Ca، Rb، K و Na
- عدم جذب Li و V

بوریج و مورای[۳] توسط نوعی باکتری به نام باسیلوس[۴] اقدام به حذف فلزات سنگین از زهاب مصنوعی نمودند که نتایج کار آنها در زیر آمده است[۴]:

- حذف مقادیر قابل توجه K^{+}، Na^{+}، Cu^{2+}، Fe^{3+} و Mg^{2+}
- حذف مقادیر متوسط Ni^{2+}، Au^{3+}، Ca^{2+}، Zn^{2+} و Mn^{2+}
- حذف مقادیر کوچک Ag^{+}، Pb^{2+}، Sr^{2+} و Hg^{2+}
- عدم جذب Al^{3+}، Co^{2+}، Ba^{2+} و Li^{+}

[۱] Beveridge
[۲] Kaval
[۳] Murray
[۴] Bacillus

برخی از فعالیتهای دیگری که در زمینه حذف فلزات از زهاب مصنوعی در سال های اخیر انجام شده در ذیل آمده است:

- سال ۲۰۰۰: جذب Pb با سلولهای زنده و مرده Phanerochate chryosporium [۶].
- سال ۲۰۰۴: جذب Cd و Pb به طور هم زمان توسط Phanerochate chryosporium [۷].
- سال ۲۰۰۵: تبدیل کروم ۶ ظرفیتی به ۳ ظرفیتی توسط قارچهای مرده Asperjillus niger، Rhizopus oryzoe، Sarcharomyces cereasia و Penecillium chrysogenum [۸].
- سال ۲۰۰۷: استفاده از یک جاذب پیوندی برای افزایش جذب Ni و Cd (Phanerochate chryosporium + چوب درخت عنبه) [۱۰ و ۹].
- سال ۲۰۰۸: جذب Zn^{2+} توسط قارچ Phanerochate chryosporium + آلیژینات کلسیم + پوست پرتقال تا ۱۶۸/۶۱ mg/g [۱۱].
- سال ۲۰۰۸: سم زدایی از کروم ۶ ظرفیتی در یک بایوراکتور با مقیاس پایلوت[۱] توسط نوعی باکتری محیطی به نام آرتروباکتر[۲] که روی کربن فعال شده گرانوله شده تثبیت شده [۱۲].

۱-۳ ضرورت انجام تحقیق

مرور بر کار محققین در خصوص استفاده از جذب بیولوژیکی برای حذف آلاینده ها نشان می دهد که مطالعات انجام گرفته، بیشتر در زمینه حذف فلز از زهاب مصنوعی صورت گرفته است. اگرچه کارهایی در خصوص جاذب های آلی مانند پوست پرتقال و سبوس انجام شده است، تاکنون کار

[۱] pilot
[۲] Arthrobacter

مشخصی در زمینه جذب بیولوژیکی فلزات سمی در ارتباط با زهاب اسیدی معـدن در کشـور صـورت نگرفته است.

بنابراین با توجه به این که زهاب اسیدی معادن از آلاینده های محیط زیست به شمار می رود و باعث تخریب محیط می گردد و با توجه به حضور فلزات سنگین در آن و لزوم کنترل اثرات این فلـزات بـر محیط زیست، ضرورت انجام تحقیق پیش رو به خوبی حس می شود.

۱-۴ هدف از انجام تحقیق

اهداف زیر از انجام این تحقیق مد نظر می باشد:

۱-بررسی امکان حذف فلزات سنگین از زهاب اسیدی معدن مس سرچشـمه بـه منظـور کـاهش بـار آلودگی

۲ـ مطالعه بازده استفاده از جاذب های آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریـوم در حـذف فلـزات سنگین

۳ـ مدل سازی فرآیند جذب با ا ستفاده از مدل های ریاضی

۱-۵ سازماندهی پایان نامه

این پایان نامه مشتمل بر ۵ فصل می باشد. در فصل اول به تعریف فلزات سنگین و لزوم حذف آن، معرفی معدن مس سرچشمه و خصوصیات زهاب اسیدی و روش های تصفیه آن پرداخته شده است. فصل دوم شامل معرفی دانش بیوتکنولوژی، میکروارگانیسم ها و شیوه عمل آنها در جذب فلزات سنگین، معرفی جاذب های مورد استفاده در این تحقیق و انواع سیستم های جذب بیولوژیکی اعم از پیوسته و ناپیوسته می باشد. فصل سوم، روش انجام کار و آزمایشات انجام گرفته جهت جذب بیولوژیکی را بیان می کند. فصل چهارم، محاسبه و استخراج نتایج و فصل پنجم، شامل نتیجه گیری و پیشنهادات است.

۱-۶ فلزات سنگین

در واژه نامه های شیمیایی به فلزاتی با جرم مخصوص بیشتر از پنج گرم بر سانتیمتر مکعب فلز سنگین اطلاق می شود لیکن از نظر بیولوژی این واژه به عناصری که دارای خاصیت سمی بوده و از غلظت کمی در خاک و گیاه برخوردار هستند اطلاق می گردد . این عناصر ممکن است برای رشد و نمو گیاه انسان و حیوان ضروری باشند یا نباشند. معمولاً فلزاتی که در وسعتی برابر یا کمتر از ۰/۱ درصد (۱۰۰۰ ppm) در پوسته زمین وجود دارند، به فلزات کمیاب موسوم اند . بر این اساس فلزاتی که در فهرست مواد سمی قرار می گیرند عبارتند از آلومینیوم، آرسنیک، بیسموت، برلیوم، کادمیوم، کروم، کبالت، مس، آهن، سرب، منگنز، جیوه، نیکل، سلنیوم، تالیوم، تیتانیوم، قلع و روی، برخی از این فلزات نظیر آهن و کروم جزء عناصر ضروری در جیره غذایی محسوب می شوند اما غلظت های بالای این عناصر بسیار سمی است [۱۴ و ۱۳].

این عناصر به دلیل تمایل به تجمع در زنجیره غذایی و ثبات در طبیعت، مشکلات اقتصادی فراوانی ایجاد می نمایند. مواد شیمیایی با سمیت بالا که در محیط زیست نا پایدار هستند و به سرعت از هم می پاشند کمتر از مواد مقاوم، خطر ناکند هر چند که این ها ممکن است ذاتاً کمتر سمی باشند [۱۵].

اگر چه فلزات ممکن است اهمیت اقتصادی و استراتژیک زیادی داشته باشند ولی ممکن است سلامت انسانها را نیز به خطر اندازند.

دلایل عمده برای حذف فلزات از محلول های آبی عبارتند از:

- حذف سمیت (جنبه محیط زیستی)
- بازیافت فلزات با ارزش (جنبه تکنولوژیکی) [۴]

۱-۶-۱ منابع آلوده کننده محیط زیست به فلزات

منابع آلوده کننده محیط زیست به فلزات عبارتند از [۱۶ و ۳]:

- معادن
- کارخانه های تغییر و تبدیل فلزات و ساخت اشیاء فلزی
- کارخانه های ذوب و احیاء فلزات
- آفت کش ها و قارچ کش ها
- صنایع آبکاری
- صنایع نساجی
- کارخانه های ساخت سرامیک و شیشه
- نیروگاه ها
- فاضلاب ها و پساب های شهری
- خاکستر کوره های آشغال سوزی
- مواد رادیو اکتیوی
- کارخانه های تجهیزات الکتریکی، رنگ، آلیاژ، باطری، نگهدارنده ها
- زهاب های کشاورزی

جداول (۱-۱) تا (۱-۴) حداکثر میزان مجاز مواد آلاینده در فاضلاب معدنی، تقسیم بندی مواد معدنی بر اساس شدت آلودگی و خصوصیات دو فلز آلاینده محیط زیست (مس و منگنز) را بیان می کنند:

جدول (۱-۱) حداکثر میزان مجاز مواد آلوده کننده در فاضلاب معدنی (گزارش سازمان حفاظت محیط زیست ایران)

مواد آلوده کننده	تخلیه به آب های سطحی	جهت مصارف کشاورزی و آبیاری	تخلیه به آب های زیرزمینی
آلومینیوم	۵	۵	۵
آرسنیک	۰/۱	۰/۱	۰/۱
باریم	۲	۱	۱
بریلیوم	۰/۱	۰/۱	۱
بور	۲	۱	۱
کادمیم	۱	۰/۰۱	۰/۰۱
کلسیم	۷۵	–	–
کلر آزاد	۱	۰/۲	۱
کلرور	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰
کروم	۱	۱	۱
کبالت	۱	۰/۰۵	۱
رنگ	عدم ایجاد ناراحتی در مقابل چشم عموم	۷۵ واحد رنگ	۷۵ واحد رنگ
مس	۱	۰/۲	۱
سیانور	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲
اکسیژن محلول	۲	۲	۲
فلورید	۲/۵	۲	۲
آهن	۳	۵	۰/۵
لیتیوم	۲/۵	۲/۵	۲/۵
منیزیم	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
منگنز	۱	۰/۲	۰/۰۵
جیوه	۰	۰	۰
مولیبدن	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱

جدول (۱-۱) – ادامه

سرب	۱	۱	۱
فسفر	۱	-	۱
نقره	۱	۰/۱	۰/۰۵
مواد جامد معلق	۳۰	۱۵۰	۳۰
سولفات	۳۰۰	۵۰۰	۳۰۰
سولفید	۱	۱	۱
روی	۲	۲	۲
pH	۶/۵-۸/۵	۵-۹	۵-۹
مواد رادیو اکتیو	۰	۰	۰

جدول (۱-۲) انواع مواد معدنی بر اساس شدت آلودگی [۱]

شدت آلودگی	آلودگی هوا	آلودگی آب	آلودگی خاک	اثر بر فعالیت و سلامت انسان
شدید	آزبست، کروم، بریلیوم، جیوه، کادمیم، کبالت	اورانیوم، جیوه، سیانور	اورانیوم، بریلیوم، کادمیم	کادمیم، بریلیوم، اورانیوم، آرسنیک، آزبست
شدید تا متوسط	مس، اورانیوم، آرسنیک، سرب	مولیبدن، آرسنیک، بریلیوم، آنتیموان، کادمیم، کبالت	کبالت، جیوه، آرسنیک، منگنز، مس، کروم	کبالت، سرب، آنتیموان، مولیبدن، سیلیس
متوسط	سیلیس، آنتیموان	مس، منگنز، نیکل، کروم	قلع، سرب، آنتیموان، آلومینیوم، نیکل	منگنز، کروم، نیکل
متوسط تا ضعیف	قلع، آلومینیوم، نیکل، روی، آهن، مولیبدن، منگنز	قلع، آلومینیوم، کبالت، روی، آهن، سرب	روی، مولیبدن	روی، آهن، آلومینیوم، مس، زغالسنگ، قلع
ضعیف			زغالسنگ، سیلیس	

جدول (۱-۳) ویژگی های مس [۱]

مس					
نام بیماری	Hemolysis ، تب بخارات فلزی، Wilson's disease، زخم معده، بیماری های کلیوی	**علائم ناشی از آلودگی به عنصر**	سردرد و سرگیجه، سوزش بینی، دهان و چشم، تهوع، اسهال، دردهای ناحیه شکم، پرخونی و خونریزی درونی	**منابع آلودگی**	• مس در نتیجه عملیات معدنکاری یا سایر فلزات وارد طبیعت می شود. • کارخانجات تولید برنز و برنج. • مس از طریق پساب های محلی، احتراق سوخت های فسیلی، تولید هیزم، کودهای فسفاته و منابع طبیعی وارد محیط می شود.
رفتار عنصر در طبیعت				**ملاحظات**	
• مس در صورت انحلال در آب به سرعت به حالت معلق در می آید. • مس معمولاً در آب های زیرزمینی وارد نمی شود. • مس در طبیعت تجزیه نمی شود.				• آلودگی از راه تماس پوستی نیز امکان پذیر است. • معمولاً مس در همه بافت های بدن، خون، ادرار، مدفوع، مو و ناخن ها یافت می شود که مقادیر زیاد مس در هر یک از این بخش ها، آلودگی به این عنصر را مشخص می کند.	

	حد مجاز	**مرجع استاندارد**	
آب	۱/۳ (mg/L)	WHO	World Health Organization
هوا	برای بخارات مس: ۰/۱ mg/m^3	OSHA	Occupational Safety and Health Administration
	برای گرد و غبار مس: ۱ mg/m^3	OSHA	Occupational Safety and Health Administration
	۰/۱ (mg/m^3)	ACGIH	American Conference of Governmental Industrial
خاک	۰/۰۳ (mg/m^3)	ACGIH	American Conference of Governmental Industrial

جدول (۱-۴) ویژگی های منگنز [۱]

منگنز					
نام بیماری	پارکینسن، manganism، تب بخار فلزات، آنفولانزا	**علائم ناشی از آلودگی به عنصر**	• مشکلات تنفسی و سکسکه، التهاب ریه ها، ذات الریه، تنگی نفس، احساس خستگی، فلج شدن اعضای بدن همراه با رعشه. • اگر زمان تماس با منگنز زیاد باشد بیمار دچار مشکلات ذهنی، جسمی و گرفتگی های عضلانی شبیه به پارکینسن می گردد که از آثار آن می توان به مشکل در راه رفتن، بی ثباتی موقت، تغییر حالت چهره و رعشه اشاره نمود.	**منابع آلودگی**	• منگنز از طریق کارخانه های آهن، فولاد (سلول های کک) و یا گرد و غبار ناشی از معدنکاری وارد محیط می شود. • منگنز از طریق ذخایر طبیعی و باطله ها نیز می تواند وارد آب و خاک شود. • معادن منگنز و صنایع مربوط به منگنز، صنایع ریخته گری و باطری سازی • منگنز در حدود ۰/۰۰۳ میکروگرم در سیگار وجود دارد و به هنگام سوختن سوخت های فسیلی آزاد می شود.
رفتار عنصر در طبیعت	**ملاحظات**				
گیاهان موجود در آب بیشتر منگنز موجود را جذب می کنند.	• منگنز یک عنصر کمیاب و بسیار ضروری برای بدن است و مسمومیت ناشی از آن خیلی کم اتفاق می افتد. فقط در مورد افرادی که در محیط کار و در زمان طولانی با آن در تماس هستند اتفاق می افتد. • مقدار زیاد آن ممکن است باعث تومور لوزالمعده در مردها شود.				

جدول (۱-۴) - ادامه

حد مجاز		مرجع استاندارد	
آب	۰/۰۵ (mg/L)	EPA	Environmental Protection Agency
هوا	۵ (mg/m^3)	ACGIH	American Conference of Governmental Industrial
	۵ (mg/m^3)	OSHA	Occupational Safety and Health Administration
خاک	۰/۰۵ (mg/m^3)	ACGIH	American Conference of Governmental Industrial

۱-۷ معدن مس سرچشمه کرمان

معدن مس سرچشمه در ۱۶۰ کیلومتری جنوب غربی کرمان و ۵۰ کیلومتری جنوب رفسنجان و در ناحیه مرکزی رشته کوه زاگرس قرار گرفته است. این معدن یکی از بزرگ ترین مجتمع های صنعتی معدنی جهان محسوب می‌گردد و بزرگ ترین تولید کننده مس ایران و یکی از بزرگ ترین معادن روباز جهان به شمار می‌رود. . ذخیره زمین شناسی معدن بالغ بر یک میلیارد و دویست میلیون تن سنگ سولفیدی با عیار متوسط ۰/۷ درصد برآورد گردیده است.

این محل از قدیم به‌دلیل جاری بودن آب‌های زنگاری‌رنگ و تشکیل رسوبات آبی‌رنگ در کف‌دره‌ها و جویبارها مورد توجه بوده است. این رسوبات نمک که سولفات مس می‌باشند، هم اکنون نیز در کف آبراهه‌های اطراف معدن قابل مشاهده می‌باشند.

در منطقه سرچشمه کانسارهایی مثل سرچشمه، دره زار، ده سیاهان و سرکوه وجود دارد [۱۷].

۱-۷-۱ تاریخچه

در مجموع تاریخچه صنعت مس در ایران را می‌توان به سه دهه تقسیم نمود. در دهه اول عمدتاً طراحی و اجرای پروژه توسط شرکت و پیمانکاران خارجی و داخلی انجام شد. دهه دوم راه‌اندازی اولیه و نگهداری صنعت و دهه سوم به بعد به ظرفیت رساندن و مطالعه چگونگی توسعه صنعت مس و اجرای پروژه های توسعه‌ای مد نظر قرار گرفت. در این راستا، شرکت ملی صنایع مس ایران به عنوان تولیدکننده محصولات مسی در ایران با هدف بهره برداری از معادن مس ایران، تولید محصولات مسی، تامین نیازهای داخلی و رقابت در بازار جهانی فعالیت می‌نماید.

بخش های تولیدی مجتمع مس سرچشمه عبارت از معدن، تغلیظ، ذوب، پالایشگاه و ریخته گری ها و لیچینگ است [۱].

جدول (۱-۵) تاریخ راه اندازی واحدهای مختلف مجتمع مس سرچشمه را نشان می دهد:

جدول (۱-۵) تاریخ راه‌اندازی واحدهای مختلف مجتمع مس سرچشمه [۱].

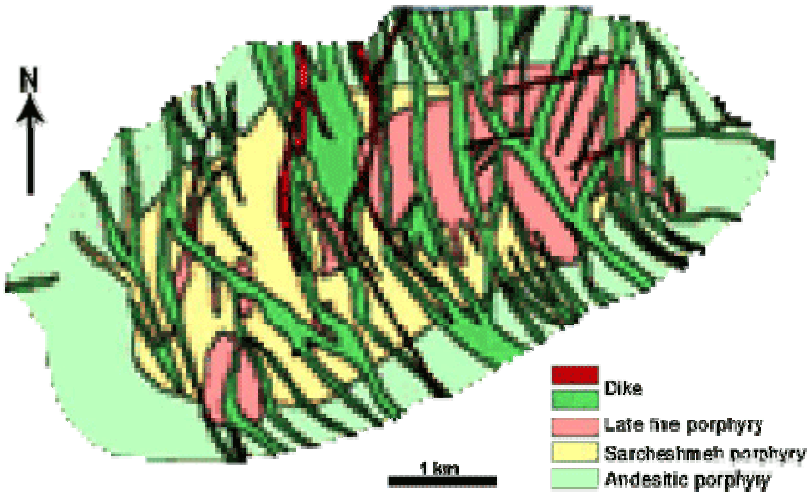
واحد	تاریخ راه اندازی
شروع عملیات استخراج (باطله برداری)	خرداد ماه ۱۳۵۳
اولین بهره برداری سولفیدی دمپ شده در نزدیک سنگ شکن اولیه	مرداد ماه ۱۳۵۴
حمل خاک سولفوری به سنگ شکن اولیه	دی ماه ۱۳۶۰
تغلیظ	دی ماه ۱۳۶۰
ذوب سرچشمه	خرداد ماه ۱۳۶۱
پالایشگاه	بهمن ماه ۱۳۶۲
ریخته گری ها	اردیبهشت ماه ۱۳۶۵
لیچینگ	تیر ماه ۱۳۷۶
تغلیظ دو	خرداد ماه ۱۳۸۳
ذوب خاتون آباد	دی ماه ۱۳۸۳

۱-۷-۲ زمین‌شناسی عمومی منطقه

معدن مس سرچشمه از دیدگاه زمین شناسی در بخش جنوب شرقی کمربند ارومیه – دختر در استان کرمان واقع شده و ناحیه ای به وسعت ۶۶۵ کیلومتر را می پوشاند [۱۷].

سرچشمه، بر روی کمربند جهانی مس قرار داشته و پهنه گسترش آن از جنوب خاوری تا شمال باختری به صورت یک محدوده بیضوی با ابعاد ۲۳۰۰×۱۲۰۰ متر و ژرفای ۱۶۱۲ متر می‌باشد. ساختار معدنی در این منطقه به صورت چندبافتی (پورفیری) بوده و نوع سنگ منطقه از نوع گرانودیوریت و زمان تشکیل آن حدود ۲۵ میلیون سال پیش می‌باشد [۱].

شکل (۱-۱) شمایی از توده پورفیری معدن مس سرچشمه را نشان می دهد:



شکل (۱-۱) شمایی از توده پورفیری در معدن مس

۱-۷-۳ دگرسانی‌ها

الگوی دگرسانی در معدن سرچشمه از نوع ژرف‌زاد[۱] می‌باشد. به این شکل که هاله‌های دگرسانی از مرکز سیستم پورفیری به طرف بیرون، پتاسیک - فیلیک و پیروپیلیک بوده و دگرسانی آرژیلیک در این کانسار بسیار ضعیف رخ داده است. بخش ژرف‌زاد معدن به طور میانگین از ۰/۰۴ گرم در تن طلا

[۱] Hypogene

و ۰/۹۷گرم در تن نقره برخوردار است و بیشترین عیار این عناصر در بخش‌های دگرسانی فیلیک شدید ± آرژیلیک در استوک سرچشمه و بیوتیتی شدید در آندزیت‌ها رخ‌داده که منطبق بر موقعیت کانی‌سازی مس پرعیار می‌باشد .

۱-۷-۴ ذخیره و استخراج معدن

کانسار مس سرچشمه ۷۴۰ میلیون تن با عیار ۰/۷۸٪ مس، ۰/۰۳٪ مولیبدن ۰/۲۷ ppm طلا، ۱/۱۴ pپpmنقره، ۱/۲ ppm نیکل و ۰/۹ ppm کبالت است و کل ذخیره زمین‌شناسی آن ۱/۲ میلیارد تن با عیار ۰/۶۹ درصد مس می‌باشد. از این ذخیره ۱۰۰ میلیون تن آن دارای عیار ۱/۵ درصد مس است که شامل یک روکش غنی شده از کالکوسیت بوده و ضخامت متوسط آن به ۴۰ متر می‌رسد. ذخیره نهشته اکسیدی ۲۷ میلیون تن برآورد شده است. این زون با ضخامت ۲۶ متر شامل کانی‌های کوپریت، مالاکیت و آزوریت است. ذخیره احتمالی معدن نیز ۱,۲۰۰,۰۰۰ هزارتن و ذخیره قطعی آن ۸۲۶,۵۰۰ هزار تن برآورد شده که بزرگترین معدن مس ایران و قابل مقایسه با معادن بزرگ دنیا چون چوکی‌کاماتا در شیلی و بینگهام در آمریکا می‌باشد.

شکل (۱-۲) نمای کلی از معدن مس سرچشمه را نشان می دهد:

شکل (۱-۲) نمای کلی از معدن مس سرچشمه کرمان [۱].

۱-۷-۵ موقعیت مس در ایران و آسیا

بر اساس اطلاعات موجود، میزان ذخایر[۱] مس دنیا برابر ۴۷۰میلیون تن مس برآورد گردیده که ایران با داشتن بالغ بر ۱۴میلیون تن مس محتوا بیش از ۳ درصد از این ذخایر را به خود اختصاص داده است. لذا به لحاظ ذخایر مس، ایران رتبه دوازدهم دنیا و چهارم آسیا را دارد [۱۷].

۱-۷-۶ بررسی آلودگی آب رودخانه شور مجتمع مس سرچشمه

مجتمع مس سرچشمه دارای زهاب های معدنی، صنعتی و بهداشتی است که از واحدهای مختلف مجتمع وارد رودخانه شور یا سرچشمه های آن می‌شود. این زهاب‌ها از فعالیت های معدنکاری، فرآیندهای تولیدی، صنعتی و منابع بهداشتی حاصل می‌شوند .

نتایج آزمایشات حاصل از زهاب ها نشان‌داده که غلظت فلزات سنگین در زهاب معدن و ابتدای رودخانه شور بالاتر از حد استانداردهای تخلیه است. در نقاط پایین دست رودخانه و سد رسوب گیر، به علت رقیق شدن و افزایش pH آب، غلظت فلزات سنگین کاهش چشمگیری می‌یابد .

همچنین بررسی ها نشان‌داده است که در حدود ۷۶٪ زهاب های بهداشتی مجتمع بدون تصفیه وارد رودخانه می‌شوند. سد رسوب گیر نقش مهمی در تصفیه خود به خودی آب رودخانه شور دارد. به‌طوری که میزان مواد آلی و غلظت فلزات سنگین در سرریز سد رسوب‌گیر پایین‌تر از حد مجاز استانداردهای زیست محیطی است [۱].

۱-۷-۷ بررسی اثرات زیست‌محیطی استخراج و فرآوری مواد معدنی در معدن مس سرچشمه

در کانسارهای سولفیدی معدن مس سرچشمه، اکسیداسیون کانی‌های سولفیدی توسط آب های فرورو و اکسیژن هوا، باعث ایجاد اسید سولفوریک و در نتیجه کاهش pH آب های فرورو و تشکیل

[۱] Reserves

زهاب اسیدی یا AMD می‌شود. این زهاب اسیدی می‌تواند اثرات زیست محیطی و اقتصادی نامطلوبی نظیر فرونشت عناصر مضر از سنگ ها و انتقال آنها به محیط زیست و تخریب شبکه های انتقال‌دهنده آب و فاضلاب را سبب شود.

۱-۷-۸ بررسی اثرات زیست‌محیطی زهاب اسیدی در معدن مس سرچشمه

تشکیل زهاب اسیدی معدن از مسائل مهم زیست‌محیطی معادن سولفیدهای فلزی محسوب می‌شود. زهاب اسیدی معدن از آلتراسیون کانی‌های سولفیدی خصوصاً پیریت (معمولاً تحت تاثیر باکتری‌ها) حاصل می‌شود. ضمن این فرآیند هیدرواکسید آهن، H^{+} و $So_{۴}^{-۲}$ محلول در آب تولید می‌شود که باعث افزایش اسیدیته آب می‌شود .

معدن مس سرچشمه که جزو کانسارهای پورفیری می‌باشد، از مناطق مستعد تولید زهاب اسیدی معدن است. بررسی ها نشان‌داده اند که در معدن مس سرچشمه پدیده زهاب اسیدی معدن به دو شکل طبیعی و بشرزاد دیده می‌شود. به طوری‌که فرآیندهای کانی‌زایی برون‌زاد و دگرسانی، خصوصاً دگرسانی فیلیک (به دلیل حضور بخش عمده‌ای از هاله پیریتی در این منطقه) نقش مهمی در تولید زهاب اسیدی طبیعی ایفا کرده‌اند [۱].

فعالیت‌های انسانی نیز عامل دیگری در تولید زهاب اسیدی معدن می‌باشد که به دو شکل عمده در این زمینه نقش دارد:

الف- انباشت انبوهه‌های باطله و اکسیدی در دره‌ها و مسیر آبراهه‌های منطقه که منشاء مهمی در تولید زهاب اسیدی معدن می‌باشند.

ب- با ایجاد توپوگرافی منفی بر اثر عملیات استخراج، تمامی آب‌های منطقه به طرف داخل پیت معدن زهکش شده و کانی‌های سولفیدی با آب‌های اکسیژن‌دار تماس حاصل می‌کنند

آب‌های سطحی معدن مس سرچشمه با استاندارد آب‌های آشامیدنی، آب‌های آبیاری و غلظت عادی عناصر در آب‌های سطحی جهان مقایسه گردید. بر این اساس، آب های خارج از معدن (پشت

پیت معدن) که بیرون از محدوده کانی‌زایی می‌باشند از لحاظ آشامیدنی و آبیاری در حد قابل قبول می‌باشند، همچنین غلظت عناصر در محدوده غلظت عادی عناصر در آب‌های سطحی جهان می‌باشد، اما آب‌های داخل پیت معدن به دلیل عملکرد فرآیند زهاب اسیدی معدن، از نظر آشامیدنی و آبیاری مطلوب نبوده و غلظت بسیاری از عناصر به‌دلیل عمل‌کرد این پدیده افزایش چشمگیر یافته است. لذا می‌توان گفت عملکرد زهاب اسیدی معدن موجب می‌شود آب چشمه‌های خارج معدن که دارای کیفیت مطلوب می‌باشند به آبی اسیدی با غلظت‌های بالایی از فلزات سنگین تبدیل شود.

۱-۸ زهاب اسیدی معدن(AMD)

از مشکلات عمده معدنکاری می توان به زهاب اسیدی، سیانور، باطله های حاصل از مراحل مختلف بهره برداری از کانسارها، گرد و غبار حاصل از معدنکاری اشاره نمود.

زهاب اسیدی معدن[۱] یکی از منابع آلوده کننده محیط زیست است که در نتیجه اکسیداسیون کانی های سولفید آهن موجود در معدن و باطله های معدنی به وجود می آید. شدت و مدت زمان تشکیل AMD بستگی به عواملی چون زمین شناسی ذخیره، کانی شناسی، هیدرولوژی و تأثیرات آب و هوایی دارد. زهاب های اسیدی معادن هنگامی تشکیل می گردند که کانی های سولفیدی (خصوصاً پیریت) در معرض هوا و آب در محیط اکسیدی و غیر قلیایی معادن روباز یا زیرزمینی قرار بگیرند. هوازدگی و اکسیداسیون و در نهایت انحلال کانی های سولفیدی در آب سبب ایجاد اسید سولفوریک و فلزات سنگین می شود که باعث کاهش کیفیت آب های سطحی و زیرزمینی می گردد. در حالی که پیریت به عنوان اصلی ترین عامل تولید AMD گزارش شده است، دیگر انواع کانی ها از قبیل کانی های سولفیدی مثل مارکازیت (FeS_2) و کانی های سولفاته مثل جاروسیت و آلونیت قابلیت تولید زهاب های اسیدی در معادن روباز و زیرزمینی و همچنین در باطله ها را دارا می باشند. کانی

[۱] Acid Mine Drainage

های کربناته (مثل کلسیت و دولومیت) نقش بسیار مهمی را در کیفیت زهاب های معدنی ایفا می کنند. این کانی ها آب های اسیدی که توسط اکسیداسیون پیریت ایجاد می شود را خنثی می کنند و همچنین شواهدی وجود دارد که این کانی ها سبب جلوگیری از اکسیداسیون پیریت می شوند.

اسید در معادن و باطله‌های معدنی در نتیجه اکسیداسیون کانی های سولفید فلزی تولید می شود. کانی های سولفید فلزی در سنگ میزبان بسیاری از کانه‌های فلزی و زغال سنگ وجود دارد. قبل از عملیات معدنکاری، اکسیداسیون این کانی ها و نرخ تشکیل اسید، تابعی از فرآیندهای هوازدگی طبیعی می باشد. اکسیداسیون در توده کانساری که تحت عملیات معدنکاری و فرآیندهای فرآوری قرار نگرفته باشد بسیار کند است و در نتیجه تولید اسید نیز آهسته است. تخلیه زهاب ناشی از این گونه کانسارها خطر بسیار کمی برای اکوسیستم طبیعی دارد. عملیات استخراج و فرآوری سبب افزایش نرخ واکنش های شیمیایی اکسیداسیون می شوند. این افزایش به دلیل بالا رفتن سطح تماس کانه با هوا و آب می‌باشد.

اکسیداسیون کانی های سولفیدی، شامل واکنش های متعددی است. هر کانی سولفیدی، نرخ اکسیداسیون خاص خود را دارد. برای مثال، مارکاسیت و پیریت فرامبودیال[1] به سرعت اکسیده می شوند در حالی که پیریت کریستاله به کندی اکسیده می شود. رابطه (۱-۱) اکسیداسیون پیریت را نشان می دهد:

$$2FeS_{2(s)} + 2H_2O + 7O_2 \rightarrow 4H^+ + 4SO_4^{2-} + 2Fe^{2+} \qquad (1-1)$$

در این مرحله، S_2^{2-} اکسیده شده تا یون های هیدروژن و سولفات (محصولات تجزیه اسید سولفوریک) را تشکیل دهد. اکسیداسیون یونهای آهن دو ظرفیتی به یونهای آهن سه ظرفیتی در pH های پایین تر، کندتر است. رابطه (۱-۲) اکسیداسیون یون آهن دوظرفیتی را نشان می دهد:

$$Fe^{2+} + O_2 + 4H^+ \rightarrow 4Fe^{3+} + 2H_2O \qquad (2-1)$$

[1] frambodial

در pH ۳/۵ تا ۴/۵، یک گونه باکتری لیفی به نام متالوجنیوم[۱]، به عنوان کاتالیزور در واکنش اکسیداسیون آهن عمل کرده و واکنش را تسریع می کند. در pH پایین تر از ۳/۵ همین واکنش توسط یک باکتری دیگر به نام تیوباسیلوس فرواکسیدان، تسریع می شود. اگر یون آهن سه ظرفیتی در تماس با پیریت قرار گیرد واکنش (۱-۳) رخ می دهد که منجر به انحلال پیریت می گردد.

$$FeS_{۲(s)} + ۱۴Fe^{۳+} + ۸H_۲O \rightarrow ۱۵Fe^{۲+} + ۲SO_۴^{۲-} + ۱۶H^+ \qquad (۳-۱)$$

این واکنش، اسید بیشتری تولید می کند. باکتری های اکسید کننده سولفات مانند تیواکسیدان[۲] ها نیز ممکن است باعث افزایش تولید AMD گردند، اگر چه به آن گستردگی کمتر شناخته شده است. انحلال پیریت توسط یون آهن سه ظرفیتی وابسته به اکسیداسیون آهن دو ظرفیتی، یک سیکل انحلال پیریت را تشکیل می دهد. رسوب آهن سه ظرفیتی به عنوان اکسید آهن هیدراته شده در واکنش (۱-۴) بیان شده است:

$$Fe^{۳+} + ۳H_۲O \leftrightarrow Fe(OH)_{۳\ (s)} + ۳H^+ \qquad (۴-۱)$$

$Fe(OH)_۳$ رسوب می کند و به صورت بی شکل، زرد، نارنجی، یا قرمز در کف رودخانه نهشته می شود که اصطلاحاً به آن"yellow boy" می گویند [۱۸].

فلزات دیگری نیز در آب زه کش معدن وجود دارند که مانند پیریت در سنگ ها وجود دارند. برای مثال، برخی از سولفیدهای فلزی ممکن است یون های فلزی به محلول آزاد کنند اما اسیدیته تولید نکند که شامل:

اسفالریت $ZnS_{(s)} + ۲O_{۲(aq)} \rightarrow Zn^{+۲} + SO_۴^{-۲}$ (۵-۱)

گالن $PbS_{(s)} + ۲O_{۲(aq)} \rightarrow Pb^{+۲} + SO_۴^{-۲}$ (۶-۱)

میلریت $NiS_{(s)} + ۲O_{۲(aq)} \rightarrow Ni^{+۲} + SO_۴^{-۲}$ (۷-۱)

[۱] Metallogenium
[۲] T.thiooxidan

گرینوکیت[1] $CdS_{(s)} + 2O_{2(aq)} \rightarrow Cd^{+2} + SO_4^{-2}$ (۸-۱)

کولیت $CuS_{(s)} + 2O_{2(aq)} \rightarrow Cu^{+2} + SO_4^{-2}$ (۹-۱)

کالکوپیریت $CuFeS_{2(s)} + 4O_{2(aq)} \rightarrow Cu^{+2} + Fe^{+2} + SO_4^{-2}$ (۱۰-۱)

کانی های سولفات آهن هیدراته که اغلب در سطح پیریت هوازده به صورت نمک های شوره‌ای دیده می‌شود شامل ملا نژیت، رزنیت، اسزومولنوکیت، رومریت و کوپانیت می باشد.

این نمک های سولفاته دارای حلالیت بسیار بالایی هستند و یک منبع آنی برای تولید آب های اسیدی در اثر انحلال و هیدرولیز می باشند. این نمک ها به طور خاص مسئول افزایش خاصیت اسیدی و بار فلزی در آب های جاری و زیرزمینی در خلال وقوع باران های سیل‌آسا می باشند.

به عنوان مثال معادله (۱-۱۱) به طور خلاصه انحلال ملانژیت را نشان می‌دهد و نشان می دهد که به ازای انحلال هر مول ملانژیت، دو مول اسید تولید می گردد.

$$FeSO_4.7H_2O_{(s)} + {}^{1}/_{4}O_{2(g)} \rightarrow Fe(OH)_{3(s)} + SO_4^{2}{}_{-(aq)} + {}^{9}/_{2}H_2O + 2H^{+}_{(aq)} \quad (۱۱-۱)$$

فلزاتی که اغلب از سولفید ها در AMD حل می شوند شامل آلومینیوم، مس، سرب، منگنز، نیکل و روی هستند. AMD ممکن است اورانیوم، توریم و رادیوم را نیز از باطله های معدن و باطله های مرتبط با عملیات معدنکاری اورانیوم، بشوید.

سرعت واکنش های مرتبط با AMD، مفهوم مهمی دارد زیرا آنها روی کیفیت (pH و محتوای فلزات) و کمیت AMD تولید شده اثر می گذارند. سرعت تشکیل AMD به فاکتورهای زیادی بستگی دارد که شامل حضور میکروارگانیسم ها، نوع کانی های سولفیدی و غیر سولفیدی موجود، سایز ذرات کانی، pH، دما، و مقدار اکسیژن موجود می باشد.

[1] greenockite

کانی های سولفیدی قابلیت های واکنش متفاوت دارند. این مسأله به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی کانی های سولفیدی مختلف است. برای مثال، برخی از کانی های سولفیدی (مثل مس، سرب، و روی) تمایل به تشکیل کانی هایی با حلالیت کم دارند. ساختار کریستالی کانی های سولفیدی، به دو دلیل، یک فاکتور مهم می باشد:

(۱) ساختارهای کریستالی مشخص، در مقابل هوازدگی(اکسیداسیون) پایدارترند.

(۲) به دلیل افزایش منطقه سطحی، کریستال های کوچک تر، سریع تر واکنش می دهند.

سرعت تشکیل AMD، بستگی به سایز ذرات و منطقه سطحی سنگ های حاوی کانی های سولفیدی دارد. ذرات کوچک تر، منطقه سطحی بیشتری داشته که می تواند با عوامل هوازدگی تماس برقرار کند. در نتیجه، باطله سنگ ها (ذرات خیلی ریز) زودتر از قطعات بزرگ، هوازده می شوند.

سرعت تولید AMD همچنین به pH و دما بستگی دارد. سرعت واکنش شیمیایی در pH پایین زیادتر است زیرا حلالیت فلزات افزایش یافته و اکسیداسیون بیولوژیکی در pH ۳/۵ ماکزیمم است. بنابراین، به طور کلی این مطلب صحیح است که هر چه اسید سولفوریک بیشتری آزاد شود، pH کمتر شده و شستشوی بیشتری رخ می دهد. سرعت واکنش های شیمیایی و بیولوژیکی، هر دو، با افزایش دما افزایش می یابد. این به دلیل افزایش حلالیت گونه های فلزی و فعالیت بیولوژیکی در دماهای بالاتر می باشد [۱۸].

از بحث بالا واضح است که تولید AMD پیچیده است. بسته به فاکتورهای زیادی که تولید AMD را تحت تاثیر قرار می دهند، کمیت و کیفیت کوتاه مدت یا بلند مدت تولیدات، ممکن است پیش بینی را مشکل سازد.

۱-۸-۱ منابع خنثی سازی

تعادل بین نرخ اسید تولید شده به وسیله اکسیداسیون کانی های سولفید آهن و سنگ میزبان خنثی کننده، مقدار خاصیت اسیدی تولید شده از باطله معادن را مشخص خواهد کرد. مؤثرترین کانی های

خنثی‌کننده اسید، کربنات کلسیم و کربنات منیزیم می باشد. از این کانی ها می توان به کلسیت، دولومیت، منیزیت و آنکریت اشاره کرد. معادله (۱-۱۲) واکنش کلسیت با اسید تولید شده از سولفید آهن در pH بیشتر از ۶/۴ را نشان می‌دهد و معادله (۱-۱۳) واکنش در pH کمتر از ۶/۴ می باشد [۱].

$$CaCO_3(s)+H^+(aq)\rightarrow HCO_3^-(aq)+Ca^{2+}(aq) \qquad (۱-۱۲)$$

$$CaCO_3(s)+2H^+(aq)\rightarrow H_2CO_3\,(aq)+Ca^{2+}(aq) \qquad (۱-۱۳)$$

نرخ انحلال کلسیت در واکنش های (۱-۱۲) و (۱-۱۳) نسبتاً سریع است. اما به هر حال نرخ انحلال برای همه کربنات ها یکی نیست: به عنوان مثال نرخ انحلال کربنات منیزیم و دولومیت اساساً کمتر از نرخ انحلال کربنات کلسیم می باشد. به علاوه کربنات های آهن سبب خنثی سازی اسید نمی شوند وتحت شرایط اکسیدی به واسطه اکسیداسیون، آهن فرو آزاد می‌کنند و در مرحله بعد رسوب هیدرواکسید فریک تشکیل می‌دهند که در نهایت سبب تولید اسید می شوند.

انحلال سیلیکات هایی از قبیل پلاژیوکلاز فلدسپات ها (مثل آنورتیت در واکنش(۱-۱۴)) و کانی های اولیوین(مثل فرستریت در معادله (۱-۱۵)) نیز می‌تواند سبب خنثی شدن اسید در شرایط اسیدی شود، اما نرخ انحلال آنها نسبت به کانی های کربناته کندتر است.

$$CaAl_2Si_2O_{8(s)}+2H^+_{(aq)}+H_2O\rightarrow Ca^{2+}_{(aq)}+Al_2Si_2O_5(OH)_{4(s)} \qquad (۱-۱۴)$$

$$Mg_2SiO_{4(s)}+4H^+_{(aq)}\rightarrow 2Mg^{2+}_{(aq)}+H_4SiO_{4(aq)} \qquad (۱-۱۵)$$

۱-۸-۲ آثار مخرب AMD

همان طور که در بالا بحث شد، AMD، اسید سولفوریک و فلزات سنگین را وارد محیط زیست می کند. محیط زیست می تواند به طور طبیعی مقداری از AMD را از طریق رقیق سازی، فعالیت بیولوژیکی و خنثی سازی جذب کند، اگرچه ظرفیت آن برای خنثی سازی AMD ممکن است

محدود باشد. زمانی که این ظرفیت پر شد، آب زه کش اسیدی و آب های سطحی جریان یافته به خارج از مناطق معدنی می توانند بسیار اسیدی بوده و حاوی غلظت های بالای فلزات باشند. آب زه کش و سطحی اسیدی حاوی فلز، می تواند سبب آلودگی آب های زیر زمینی شود.

توانایی جذب AMD توسط محیط زیست، بستگی به شرایط خاص محل مثل الگوهای زهکشی و رقیق سازی، فعالیت بیولوژیکی و قدرت خنثی سازی کانسنگ، کانی های باطله، باطله ها و یا خاک های در بر گیرنده دارد. رقیق سازی و الگوهای زه کشی به میزان زیادی به آب و هوا و توپوگرافی محل بستگی دارد. فعالیت های بیولوژیکی که به طور طبیعی اتفاق می افتد می تواند غلظت فلز را توسط جذب سطحی و ترسیب برخی گونه های فلزی مثل سولفات ها، کاهش دهد [۱۸].

آثار AMD در طول زمان می تواند افزایش یابد اگر قابلیت خنثی سازی خاک، از بین برود. اگر کانی های خنثی کننده، تمایل به تشکیل لایه های رسوب نمک یا ژیپس داشته باشند که مانع واکنش بیشتر می گردد، یا اگر کانی های خنثی گر از طریق واکنش های زیاد با AMD ظرفیت خود را برای خنثی سازی از دست بدهند، این موضوع اتفاق می افتد. اگر سرعت تشکیل AMD به دلیل تغییر شرایط محل تغییر کند، اثر AMD می تواند تغییر کند. به این دلایل، اغلب یک تأخیر زمانی بین شروع فرآیندهای معدنکاری تا یافتن و تشخیص AMD وجود دارد. این زمان بین ۱ تا ۱۰ سال و یا حتی بیشتر متغیر است. AMD ممکن است حتی پس ازبازسازی و احیای سطح نیز دیده نشود. وقتی که تولید اسید آغاز شود، کنترل آن مشکل بوده، اغلب سریع بوده و می تواند برای قرن ها باقی بماند.

AMD ممکن است با مشکلات دیگری که از فعالیت های معدنکاری ایجاد می شود، ترکیب شود. محصولات شیمیایی یا نفتی که در تعمیر تجهیزات یا وسایل نقلیه استفاده می شوند می توانند محل های معدنکاری را آلوده کنند. تکنولوژی های شستشوی توده ها، از سیانید برای استخراج طلا استفاده می کنند و خرابی آسترها می تواند سیانید را به محیط زیست وارد کند. به علاوه، معدنکاری اغلب منجر به فرسایش بیشتر، نمک های محلول بیشتر، بار رسوبات و گل آلودگی آب های سطحی

می شود. رادیونوکلوئید ها نیز می توانند از سنگ شسته شوند. همه این آلاینده ها، همان طور که قبلاً اشاره شد می توانند وارد آب های سطحی و زیر زمینی شوند [۱۸].

اگر شرایط محل برای تولید AMD مساعد و ظرفیت جذب AMD پر شده باشد، آثار محیط زیستی می توانند بسیار جدی باشند. این آثار به طبیعت AMD (قدرت و حجم) و نزدیکی منابع آبی بستگی دارد. این آثار می تواند شامل کاهش کیفیت آب، تغییر اکوسیستمهای آبی و خاکی، خرابی پنهانی زیستگاه های آبی، و اگر محل، نزدیک محل سکونت انسانی است، آلودگی ذخایر آب آشامیدنی، شود.

۱-۹ تصفیه زهاب های اسیدی معدن

۱-۹-۱ سیستم های تصفیه فعال[۱]

خنثی کردن زهاب های اسیدی و رسوب دادن فلزات با یک عامل خنثی کننده از قبیل هیدروکسید کلسیم یا سدیم متداول ترین و ساده ترین روش بوده و نسبتاً کم هزینه می باشد و برای تصفیه حجم های زیاد از زهاب های معدنی با درصد بالای آلودگی به کار برده می شوند.

در این روش مکانیزم تصفیه بر فرآیندهای خنثی کردن و رسوب دادن استوار می باشد. برای رسوب دادن فلزاتی چون مس، روی، کادمیوم، منگنز، سرب و آهن دو ظرفیتی، pH بیشتر از ۹ لازم است تا قابلیت حلالیت پایینی برای هر یک از یون های فلزی مذکور تأمین نماید. آهن سه ظرفیتی و آلومینیوم در pH تقریبی کمتر از ۵ هیدرولیز شده و رسوب می نمایند. البته در برخی حالت ها ممکن است فرآیندهای خنثی کردن برای کاهش دادن فلزات به درصدهای مورد نظر، کارا نباشند [۱۹].

در این روش یک ماده شیمیایی خصوصاً یک ماده قلیایی از قبیل هیدروکسید کلسیم، هیدروکسید سدیم یا هیدروکسید منیزیم به سیستم اضافه می گردد تا سبب افزایش pH زهاب های اسیدی

[۱] Active treatment system

معدن گردد و موجب شود فلزات به صورت هیدروکسیدهای غیر محلول ته نشین گردند. واکنش های شیمیایی بین مواد قلیایی و اسید معدنی مربوط به خنثی شدن اسیدیته و ته نشین شدن فلزات مطابق زیر است:

خنثی شدن اسیدیته:

$$Ca(OH)_2+2H^+ \rightarrow Ca_2^{2+}+2H_2O \qquad (16-1)$$

تولید هیدروکسید فلزی:

$$MX+Ca(OH)_2 \rightarrow M(OH)_2+CaX \qquad (17-1)$$

که در اینجا:

M معرف یک فلز و

X بیانگر یک لیگاند[1] فلز از قبیل یون سولفات است.

استفاده از آهک (لایم) همجون CaO یا $Ca(OH)_2$ خصوصاً اگر تصفیه مقادیر زیادی از زهاب های اسیدی مد نظر باشد، اغلب بر عوامل قلیایی دیگر ترجیح داده می شود زیرا فراوان بوده و از خاصیت واکنش دهندگی[2] بالایی برخوردار است [۲۰]. در فرآیند خنثی کردن با آهک[3]، فلزات و سولفات به ترتیب به صورت کمپلکس های هیدروکسید فلزی و ژیپس رسوب می کنند. در داخل حوضچه ها[4] با استفاده از وسایل مکانیکی جدا کننده مایع از جامد (مانند کلاسیفایر/تیکنر)، رسوب و گل و لجن تشکیل شده[5] از زهاب تصفیه شده و خنثی شده جدا می گردد و بدین ترتیب آب تمیز حاصل می گردد و کل و لجن در یک ناحیه کنترل شده انبار می گردد. فرآیند خنثی کردن و رسوب گذاری با آهک با معایبی نیز همراه است. این روش مقادیر زیادی و لجن تولید می نماید. گل و لجن تولید شده مشکلات زیست محیطی عدیده ای را به همراه خواهد داشت. اگر قرار باشد تا برخی از فلزات را تا مقادیر خیلی پایین حذف نمود، این روش تصفیه کارایی مناسبی ندارد.

[1] ligand
[2] reactivity
[3] Lime-neutralization
[4] Ponds
[5] sludge

با استفاده از عوامل سولفیدی[۱] همچون Na_2S، H_2S و CaS می توان فلزات را تا مقادیر زیادی کاهش داد. در این فرآیند در pH های کمتر از ۶، ترکیبات سولفیدی تشکیل می شود. در این روش هزینه های مربوط به تجهیزات اولیه و ساخت بسیار بالا است [۲۳ و ۲۲، ۲۱].

غلظت فلزات در آب تصفیه شده در این روش کمتر از مواقعی است که با رسوبات هیدروکسیدی حاصل می شوند. کمپلکس های سولفید فلزی مزیت هایی نسب به رسوبات هیدروکسیدی دارند. آنها از حجم کمتری برخوردارند و از نظر شیمیایی پایدارترند. به علاوه این که، مادامی که تحت شرایط غیر هوازی[۲] ذخیره شوند نسبت به تغییرات pH کمتر حساس هستند. با این وجود به سبب خاصیت و طبیعت کلوئیدی رسوبات سولفید فلزی، سیال خروجی[۳] تصفیه شده ممکن است به فیلتراسیون نیز نیاز داشته باشد تا ذرات جامد معلق از خروجی تصفیه شده حذف شود. به علاوه فرآیند تشکیل رسوب سولفیدی پر هزینه تر از فرآیند خنثی کردن با لایم می باشد. به همین دلیل کاربرد آن به شرایط ویژه هر منطقه بستگی دارد. فرآیند تشکیل رسوب سولفیدی که به صورت بیولوژیکی تولید می شود[۴] به عنوان یک روش تصفیه آلترناتیو مد نظر قرار دارد [۱۹].

۱-۹-۱-۱ کانال های آهکی روباز[۵]

برای ایجاد چنین سیستمی، کف نهرهایی[۶] را با سنگ های آهکی با عیار بالا می پوشانند. سنگ آهک مورد نظر نقش اساسی در خنثی کردن زهاب های اسیدی معدن دارد ولی در مناطقی که آب شرایط بی اکسیژن ندارد سنگ آهک با هیدروکسیدهای آهن پوشانده می شود. تجارب به دست آمده از مناطق مختلف نشان داده است که وقتی آب های اسیدی روی سنگ آهک موجود در کف نهرها عبور می نمایند مقدار حذف فلزات و کاهش اسیدیته به میزان ۲۵ درصد بهبود می یابد [۲۵ و ۲٤].

---

[۱] Sulphide reagents
[۲] anaerobic
[۳] effluent
[٤] Biologically generated sulpjide precipitation process
[٥] Open limeston channels
[٦] streambed

۱-۹-۲ روش های تصفیه غیر فعال[۱]

در برخی شرایط، این فرآیندها روش های جایگزینی قابل اجرا برای روش های متداول رسوب دادن-خنثی کردن به وسیله آهک و روش رسوب دادن با سولفید می باشند.

اگر چه در روش های تصفیه غیر فعال از فرآیند مشابه که در سیستم های تصفیه فعال استفاده شدند، استفاده می شود ولی روش اجرا متفاوت می باشد. در این روش به داخل آب های اسیدی مواد قلیایی اضافه می شود تا موجب افزایش pH گردد. این چنین سیستم های تصفیه ای ویژه مناطقی هستند که زهاب های اسیدی دارای جریان کم می باشد [۲۶ و ۲۱].

از آنجایی که روش های تصفیه غیر فعال مستقلاً برای تصفیه زهاب های اسیدی استفاده می شوند از این رو هزینه های نگهداری آنها نسبتاً پایین می باشد. حتی اگر در برخی مناطق تصفیه شیمیایی اضافی (تکمیلی) نیز مورد نیاز باشد این روش ها هنوز اقتصادی هستند به ویژه این که این روش ها برای تصفیه زهاب هایی که درجه حرارت، شدت جریان و ترکیب شیمیایی آنها نوسان نمی کنند و در تمام سال می مانند، ایده آل هستند. استفاده از چنین روش های کم هزینه ای اساساً برای معادن متروک و یا برای آن دسته از شرکت های معدنی که نسبت به اثرات زیست محیطی آب های اسیدی بی توجه هستند مناسب می باشند [۲۴].

مواد قلیایی مورد نیاز برای خنثی کردن اسید و حذف فلزات از طریق فرآیندهای طبیعی زیر تأمین می گردد:

- حل سنگ آهک و دیگر سنگ های کربناته
- تولید سولفید توسط باکتری های احیا کننده سولفات که موجب ترسیب فلزات می گردد.

[۱] Passive treatment systems

متداول ترین سیستم های تصفیه غیر فعال عبارتند از:

- گودال های آهکی بی اکسیژن غیر فعال[۱]
- تالاب های مصنوعی هوازی و غیر هوازی[۲]
- جذب بیولوژیکی [۱۹]

۱-۹-۲-۱ گودال های آهکی بی اکسیژن غیر فعال

این روش به عنوان یک پیش تصفیه کننده برای تصفیه زهاب های اسیدی مورد استفاده قرار می گیرد. در این روش زهاب های اسیدی از طریق کانال هایی که در داخل آنها سنگ های آهکی خرد شده در شرایط بی اکسیژن قرار گرفته اند، تحت نیروی ثقل عبور داده می شوند. برای ایجاد شرایط بی اکسیژن، سنگ های آهکی خرد شده را با یک ماده مصنوعی غیر قابل نفوذ، رس و یا سایر مواد می پوشانند. این شرایط مانع از ته نشین شدن و رسوب گذاری هیدروکسیدهای فلزی در داخل کانال و روی گراول های آهکی می گردد. واکنش شیمیایی بین زهاب های اسیدی و سطح خرده سنگ های آهکی، خاصیت قلیایی محیط را افزایش می دهد [۲۰].

۱-۹-۲-۲ تالاب های هوازی

سیستم های تالاب هوازی جهت تشدید فرآیندهای اکسیداسیون ساخته می شوند. این تالاب با عمق نسبی کم (۳۰ سانتی متر) طراحی و گیاه کاری شده است. از ویژگی های مهم این نوع تالاب ضخیم بودن جریان سطحی در آن می باشد (ضخامت ۳۵ سانتی متر). در این سیستم ها، آهن دو ظرفیتی به آهن سه ظرفیتی تبدیل می شود. با انجام واکنش هیدرولیز، آهن سه ظرفیتی به صورت هیدروکسید آهن سه ظرفیتی ته نشین می گردد [۱۹].

[۱] Passive anoxic limestone drains (PALD)
[۲] Constructed anaerobic and aerobic wetlands

۱-۹-۲-۳ تالاب های غیر هوازی

سلول های غیر هوازی از یک ترکیب آلی ضخیم تر تشکیل شده است. مواد آلی از گیاهان خشک شده، فضولات حیوانات، مواد گیاهی پوسیده یا مواد قارچی پوسیده شده تشکیل یافته است [۲۷ و ۲۳]. فرآیند باکتریولوژیکی احیا سولفات در سیستم غیر هوازی ایجاد شده در مواد آلی، مهمترین روش برای حذف فلزات در سلول های تالاب به حساب می آید.

در این روش، سولفات های فلزی موجود در زهاب های معدن به سولفیدها احیا شده و منجر به تولید رسوبات غیر محلول در داخل مواد آلی می شود. این واکنش کیفیت زهاب را بهبود بخشیده و مقدار pH را افزایش می دهد [۱۹].

فصل دوم

تئوری

۲-۱ بیوتکنولوژی

بیوتکنولوژی علم کاربرد ارگانیسم ها و ترکیباتشان در فرآیندهای صنعتی و بازرگانی می باشد. همان طور که هنر در رنسانس، موسیقی در قرن ۱۸، مهندسی در قرن ۱۹ و فیزیک در قرن ۲۰ رایج شد، اکنون نیز قرن بیوتکنولوژی است [۱۵].

واژه بیوتکنولوژی (زیست فناوری) نخستین بار در سال ۱۹۱۹ توسط Karl Ereky به مفهوم کاربرد علوم زیستی و اثر متقابل آن ها در فناوری های ساخت بشر به کار برده شد. به طور کلی هر گونه فعالیت هوشمندانه بشر درخلق، بهبود و عرضه محصـــولات گوناگون با استفاده از موجودات زنده مخصوصاً از طریق دستکاری ژنتیکی آنها در سطـح مولکـولی، در حوزه بیوتکنولوژی قرار می‌گیرد.

برخی کاربردهای سنتی زیست فناوری عبارتند از: اصلاح نباتات و دام، تهیه نان، ماست و پنیر که سپس تولید انواع آنتی بیوتیک ها، انسولین انسانی و اینترفرون را نیز شامل گردید.

کمیته ملی زیست‌فناوری کشور بیوتکنولوژی را این گونه تعریف کرده است: بیوتکنولوژی (زیست فناوری) عبارت است از کاربرد علوم مختلف در استفاده مستقیم یا غیر مستقیم از موجودات زنده، قسمتی از بدن و یا فرآورده های آنها در اشکال طبیعی یا تغییر یافته. به عبارت دیگر، زیست فناوری شامل عضوی از فناوری هاست که در آن از موجودات زنده و یا اجزای آنها بهره گرفته می‌شود.

این تعریف، گستره وسیعی از رشته های مختلف علوم و فنون را در بر می گیرد. چنان که می‌توان زمینه های فعالیت زیست فناوری را در بخش های کشاورزی، پزشکی، دام و آبزیان، فراورده‌های غذایی و داروئی، صنعت و محیط زیست فراهم نمود. پیشرفت‌های چشم‌گیر زیست فناوری در دهه های اخیر (به ویژه پس از دستیابی به روش‌های نوین مهندسی ژنتیک در جداسازی ژن‌ها، دستکاری و انتقال آنها از موجودی به موجود دیگر) آن را به عنوان یکی از مهمترین فناوری های مولد در حال و آینده معرفی کرده است.

به طور کلی زیست فناوری یکی از محورهای اساسی توسعه در بسیاری از کشورها قلمداد شده و در تنظیم راهکارها و برنامه های ملی توجه جدی به آن معطوف گردیده است.

در قرن ۲۱ با توجه به افزایش بی رویه جمعیت و نیاز به تأمین مواد غذایی، زیست فناوری کشاورزی مورد توجه خاص قرار گرفته است. گیاهان زراعی تراریخته پرمحصول و مقاوم گوناگونی مانند ذرت، برنج، سویا، گوجه فرنگی و گندم تولید شده و تکنیک‌های نوین زیست فناوری در افزایش تولید شیر و گوشت دام موثر واقع شده‌اند.

تأمین سلامت و بهداشت جمعیت بیش از شش میلیاردی ساکنان کره زمین از طریق تولید داروهای جدید و واکسن ها، دستیابی به روش‌های درمان کم هزینه بیماری‌ها، یافتن درمان بیماری‌های صعب العلاج و تشخیص سریع‌تر و مؤثرتر بیماری های گوناگون از جمله بیماری‌های ژنتیکی از وظایف زیست فناوری پزشکی می‌باشد.

رویکرد جدید به محیط زیست در قرن حاضر، در نظر گرفتن آن به عنوان یک جزء از سرمایه ملی کشورها و در نتیجه لزوم حفظ آن با استفـاده از زیست فناوری از مهم ترین دغدغه های بشر در قرن حاضر است. حذف مؤثر آلاینده‌های محیطی خطرناک از محیط زیست با استفاده از میکروارگانیسم‌های پالایشگر آلودگـی و استـفاده از تکنیک‌های حفظ، نگهداری و حراست از ذخایر ژنتیکی کشور از جمله کاربردهای زیست فناوری در زمینه محیط زیست می باشد.

کاربردهای زیست فناوری در صنعت که منجر به تولید محصولات گوناگون با صرف هزینه و انرژی کمتر، ضایعات اندک و از همه مهم تر با کمترین اثر مخرب بر محیط زیست می شود، باعث شده که از این فناوری به عنوان یکی از پاک ترین و در عین حال سودآورترین بخش های صنعت یاد شود. زیست فناوری همچنین تولید محصولات نوینی را که قبلاً از روش های دیگر امکان تولید آن وجود نداشته یا بسیار سخت و دشوار بوده، ممکن ساخته است.

روش های سنتی تصفیه شامل خنثی سازی زهاب توسط یک ماده آلکالن (قلیایی) مثل آهک یا ایجاد زمین های مرطوب، جایی که آب آلوده، به لجن حاوی باکتری که به طور طبیعی وجود دارند و آلودگی را از بین می برند، رسوخ می کند، را شامل می گردد. در معادن مرتفع، روش های سنتی، گران یا غیر ممکن هستند. استفاده از آهک، تولید لجن می کند که سرمایه گذاری زیادی از نظر

تجهیزات و کارگر برای رفع آن نیاز دارد. ساخت زمین های مرطوب در مناطقی که دارای کمبود زمین مسطح کافی برای ایجاد تالاب می باشند و نوسانات شدید دمایی دارند که روی بقای گیاه و میکروب تاثیر می گذارد، غیر ممکن است.

میکروارگانیسم ها را می توان برای پاک کردن و زدودن آلودگی های ناشی از فعالیت های انسانی به کار گرفت و این کار را پاک سازی بیولوژیکی[1] نامیده اند. انواع جانداران از طبیعت جدا شده که قادرند نفت و روغن نشت یافته، حلال ها و سایر آلاینده های سمی محیط را به طور مستقیم در محل نشت یا بعداً که مواد سمی خاک ها و آب سطحی را آلوده می سازند بزدایند. *گونه گونی زیاگان* که در ابتدا شناخته شدند واجد منابع ژنتیکی وسیعی برای محلول ها و پاک کردن محیط می باشند و پژوهش وسیعی در حال حاضر در این زمینه انجام می گیرد. رشته بیوتکنولوژی با ابداع روش های متعدد و تغییر دادن ژنتیکی این قبیل میکروارگانیسم ها در این راه کمک شایانی نموده و میکروارگانیسم ها را ابزار خوبی برای پاکسازی بهتر محیط ها نموده است [۲۸].

۲-۲ میکروبیولوژی

میکروبیولوژی دانشی است که درباره میکروارگانیسم ها یا جانداران بسیار ریز بحث و گفتگو می‌کند. جاندارانی که در میکروبیولوژی بیشتر بررسی می‌شوند شامل پروکاریوت ها (باکتری‌ها)، ویروس ها، ویوکاریوت‌هایی مانند قارچ و تک سلولی‌ها یا پروتوزوآها می‌باشد. پروکاریوت ها ریزسازواره‌هایی هستند که DNA آنها بطور فیزیکی ازسیتوپلاسم جدا نشده است.

۲-۲-۱ تاریخچه

علم میکروبیولوژی از سال ۱۶۷۴ هنگامی که آنتوان لوون هوک، باعدسی شیشه‌ای خود دنیایی از موجودات ریز را در قطره آب برکه مشاهده کرد. در اواخر قرن ۱۷ نظریه تولید خود به خودی مورد

[1] Bioremediation

بحث قرار گرفت .در این زمان بسیاری از دانشمندان از جمله فرانسیسکو ردی، فکر می‌کردند که میکروارگانیسم‌ها از مواد غیر زنده ایجاد شده‌اند. در سال ۱۷۶۶ اسپالانزانی نتیجه گرفت که میکروب‌ها از هوای غیرسترون وارد محلول های غذایی شده و آنها را فاسد می‌کنند. دو ابرمرد دنیای علم که به کنار گذاشتن نظریه خلق‌الساعه کمک شایانی کردند شیمیدان فرانسوی به نام پاستور و پزشک انگلیسی به نام تندال بود. در ۱۰۰ سال گذشته میکروب شناسان موفق به دریافت چند جایزه نوبل شده‌اند.

میکروبیولوژی یک علم کاربردی است که با بسیاری از شاخه‌های علوم رابطه نزدیک دارد. از جمله می‌توان به ژنتیک، پزشکی، زیست‌شناسی سلولی، انگل شناسی، قارچ‌شناسی پزشکی و بیوشیمی اشاره کرد.

۲-۲-۲ پیشرفت های میکروبیولوژی در قرن بیستم

در قرن بیستم رشته میکروبیولوژی در دو جهت جداگانه ای پیشرفت و توسعه سریع پیدا کرد: میکروبیولوژی پایه و میکروبیولوژی کاربردی.

پیشرفت های علمی در رشته میکروبیولوژی کشاورزی به درک فرآیندهای بیولوژیکی در خاک منجر شد. میکروبیولوژی خاک اساس محکمی برای مطالعات فرآیندهای میکربی در آب ها نظیر دریاچه ها، رودخانه ها و اقیانوس ها بنیان گذاشت که از آن به نام میکروبیولوژی آب ها نام می بریم. شاخه ای از میکروبیولوژی آب ها با توسعه فرآیندهای تهیه آب سالم برای جامعه انسانی بحث می کند. تغییر و تبدیل مواد زائد شهری به توسعه فرآیندهای مهندسی در مقیاس بزرگ به منظور تصفیه فاضلاب شهری که اکثر آنها میکربی است نیاز داشت. بدین نحو، میکروبیولوژی بهداشتی توسعه پیدا کرد که نه فقط برای زیست شناسی اهمیت دارد بلکه برای مهندسان که مسئول طراحی این فرآیندها به مقیاس بزرگ هستند حائز اهمیت است [۲۸].

۲-۳ مکانیسم عمل میکروارگانیسم ها جهت تصفیه فلزات

مکانیسم عمل میکروارگانیسم ها جهت تصفیه فلزات از فاضلاب ها به شرح زیر می باشد:

الف) آب شویه میکروبی[۱]: تعدادی از میکرو ارگانیسم ها با ترشح موادی در محیط، موجب انحلال فلزات در محیط های آبی اطراف شده و فلزات را به شکل نمک های محلول از محیط جدا می کنند. تیوباسیلوس یکی از این نوع باکتری ها می باشد.

ب) تجمع زیستی[۲]: جذب ذرات فلزی به داخل میکروارگانیسم و انباشته شدن آنها در داخل سلول از طریق فرآیند متابولیسمی.

ج) جذب زیستی[۳]: جذب ذرات فلزی به دیواره میکروارگانیسم به طور مستقل از فرآیند متابولیسمی.

د) تغییر شکل آنزیمی[۴]: استفاده میکروارگانیسم ها از آنزیم هایشان جهت تغییر شکل و تصفیه آلاینده های فلزی است که شامل:

- ته نشینی فلزات[۵]: تعدادی از میکروارگانیسم ها می توانند فلزات سنگین موجود در محلول را ته نشین کنند.
- تغییر شکل اکسیداسیون و احیاء[۶]: تغییر شکل در اثر واکنش های اکسیداسیون احیا مثل تغییر Cr (VI) به Cr (III) توسط قارچ آسپرژیلوس نایژر.
- استفاده از فلزات با ظرفیت شیمیایی بالا به عنوان پذیرنده الکترون
- تشکیل بیولوژیکی کانی ها[۷]: یک مکانیسم غیر مستقیم در حذف فلزات سنگین بر طبق تجزیه زیستی کامل مواد آلی به مواد غیر آلی مثل H_2O و CO_2 می باشد. نظیر باکتری های احیا کننده سولفات و گونه های باکتریایی سیترو باکتر (باکتری های احیا کننده آهن) [۲۹]

---

[۱] Bioleaching
[۲] Bioaccumulation
[۳] Biosorption
[۴] Enzyme-catalyzed transformation
[۵] Metal Precipitation
[۶] Redox Transformation
[۷] Biomineralization

۲-۴ پدیده جذب زیستی

اصطلاح جذب بیولوژیکی به حالت های زیادی از جذب فلز غیر فعال توسط بایومس که حتی می تواند مرده باشد اطلاق می شود. جداسازی فلز توسط بخش های مختلف سلول می تواند توسط عوامل زیر رخ دهد:

- تشکیل کمپلکس[۱]
- کوردیناسیون[۲]: در شیمی، یک کمپلکس کوردیناسیون یا یک کمپلکس فلزی، یک ساختار حاوی یک اتم مرکزی یا یون (معمولاً فلزی) است که به آرایه ای از مولکول ها یا آنیون های در برگیرنده متصل شده (لیگاندها، عوامل کمپلکس ساز). اتم داخل یک لیگاند که به طور مستقیم به اتم یا یون مرکزی متصل شده اتم دهنده خوانده می شود. لیگاند حداقل یک جفت الکترون به اتم یا یون مرکزی می دهد. در بیوشیمی و داروشناسی، یک لیگاند ماده ای است که قادر به ایجاد اتصال و تشکیل یک کمپلکس با یک بایومولکول برای انجام یک هدف بیولوژیکی است. در معنای دقیق تر، یک مولکول منفرد راه انداز است که به یک مکان روی یک پروتئین هدف متصل می شود.
- Chelation فلزات : تشکیل یا حضور دو اتصال جداگانه یا بیشتر بین یک لیگاند چند دندانه و یک اتم مرکزی منفرد. معمولاً این لیگاندها ترکیبات آلی هستند و Chelant خوانده می شوند.
- تعویض یونی[۳]
- جذب سطحی[۴]
- ریز رسوب غیر آلی[۵]

[۱] Complexation
[۲] Coordination
[۳] Ion exchange
[۴] Adsorption
[۵] Inorganic microprecipitation

هر یک یا ترکیبی از مکانیسم های اتصال فلزات که در بالا آمده ممکن است به درجات مختلف در ساکن نمودن یک یا چند گونه فلزی بر روی جاذب بیولوژیکی موثر باشند. کاتیون های فلزی توسط بارهای منفی روی سطح سلول، جذب می شوند.

یک مزیت استفاده از میکرو ارگانیسم های مرده این است که فرآیند تکثیر و کاربرد آنها از یکدیگر جدا بوده و در نتیجه هر دو فرآیند بهتر کنترل شده و میزان جذب فلز توسط جاذب بیولوژیکی افزایش می یابد.

جذب بیولوژیکی یک ویژگی انواع خاصی از بایومس میکروبی غیرفعال مرده برای اتصال و تمرکز فلزات سنگین از محلول های آبی حتی بسیار رقیق می باشد. بایومس این ویژگی را تنها با عمل کردن به عنوان یک ماده شیمیایی به عنوان یک مبادله گر یون از منشاء بیولوژیکی، بروز می دهد. به طور خاص، ساختار دیواره سلولی جلبک ها، قارچ ها و باکتری های خاص، مسئول این پدیده هستند. اهمیت این روش مخصوصاً در پساب هایی با غلظت کم که استفاده از روش های شیمیایی مقرون به صرفه نمی باشد مشخص می گردد [۴].

۲-۴-۱ عوامل موثر در جذب بیولوژیکی

برخی پارامترها در عملیات جذب، روی بازدهی جذب اثر گذاشته و تعیین کننده می باشند. لذا با بهینه کردن این پارامترها می توانیم درصد جذب فلز توسط میکرو ارگانیسم را افزایش دهیم که عبارتند از:

pH، دما، غلظت بایومس، سرعت اختلاط، مدت زمان تماس و حضور یون های دیگر.

هر یک از این عوامل به نحوی روی فرآیند جذب تاثیر می گذارند که در جذب هر گونه فلزی توسط هر میکروارگانیسم مشخص باید به طور خاص بررسی شده و قاعده کلی در این زمینه وجود ندارد. ولی برخی عوامل مانند حضور یون های دیگر در اکثر موارد میزان جذب را کاهش می دهد.

۲-۴-۲ علل برتری روش های بیولوژیکی در حذف فلزات سنگین نسبت به روش های شیمیایی

- هزینه کمتر
- عدم نیاز به دستگاه ها و مواد گران قیمت
- سازگار با محیط زیست
- سادگی در عملکرد
- استفاده مقدار کم جاذب در جذب غلظت های بالای فلزات
- امکان استفاده مجدد بایومس برای عملیات جذب

۲-۴-۳ خصوصیات جاذب

جاذب های بیولوژکی دارای مشخصات زیر هستند:

- سهولت و کارآمدی جذب و آزادسازی فلز
- هزینه تولید کم و قابلیت استفاده مجدد
- سایز ذرات، شکل و خصویات مکانیکی مطلوب برای استفاده در سیستم های جریان پیوسته
- سرعت و کارآمدی عملیات حذف جاذب از محلول
- انتخاب گری در جذب
- انتخاب گری در جداسازی

۲-۴-۴ مزایای جذب بیولوژیکی

سیستم های تصفیه بر پایه جذب بیولوژیکی دارای مزایای زیر است:

- حذف انتخابی فلزات در غلظت های پایین
- رسیدن غلظت فلز در فاضلاب به مقادیر مجاز

- کارکرد سیستم در محدوده وسیعی از pH (۳ تا ۹)
- کارکرد سیستم در محدوده وسیعی از دما (۴ تا ۹۰ درجه سانتی گراد)
- هزینه سرمایه گذاری و عملیاتی پایین
- حذف هزینه و مسئولیت ناشی از در معرض قرارگیری لجن سمی تولید شده توسط تبدیل فلزات آلاینده به یک محصول فلزی [۴]

۲-۵ قارچ ها

میکروارگانیسم هایی که قادر به حذف فلزات سنگین می باشند عبارتند از:

باکتری، مخمر، جلبک، قارچ و اکتینو میست ها [۳۰]

قارچ ها بسته به نوع فلز در pH های قلیایی جذب بهتری از خود نشان می دهند . زیرا دیواره سلولی آنها شامل گروه های کربوکسیلات و فسفات است . قارچ ها قدرت جذب بیشتری را نسبت به برخی گونه های دیگر میکروارگانیسم دارند [۷].

۲-۵-۱ خصوصیات کلی قارچ ها

قارچ ها، ارگانیسم های غیر متحرک با هسته واقعی و دارای دیواره سلولی مشخص هستند که فاقد رنگدانه کلروفیل بوده و به وسیله اسپور یا هاگ تکثیر می یابند. اسپور یا کونیدیای آنها به طریق جنسی و یا غیر جنسی تولید شده، کوچک (میکروسکوپیک) بوده و فاقد جنین است. اسپور یا کونیدیای قارچ ها در صورتی که در محیط و شرایط مناسب قرار گیرند، رشد و تکثیر یافته، اشکال مخمری و یا رشته ای (کپکی) را به وجود می آورند. اگر چه در اکثر قارچ ها ارگانیسم تنها به یک شکل تکثیر می یابد، ولی تعدادی از آنها قارچ های دو شکلی بوده و بسته به شرایط زیستی، ارگانیسم را می توان به هر دو شکل فوق مشاهده نمود. پس از قرار گرفتن اسپور قارچ های کپکی در شرایط مناسب، تکثیر آن موجب ایجاد رشته ای می گردد که از سلول های به دنبال هم تشکیل شده، به آن

هایفا[1] و به جمع آنها هایفی[2] می گویند. سلول های تشکیل دهنده هایفا ممکن است تا حدی مستقل از هم بوده و به وسیله تیغه ای[3] از یکدیگر جدا شوند و یا آنکه ممکن است بدون تیغه بوده و هسته ها در یک سیتوپلاسم مشترک قرار گرفته باشند. سلول های تشکیل دهنده هایفا بسته به گونه، ممکن است تک هسته ای بوده و یا از تعدادی هسته تشکیل شده باشند. به قارچ های کپکی که هایفی آنها بدون تیغه میانی باشد، قارچ های کوئنوسیتیک[4] گویند. طبقه بندی قارچ ها معمولاً بر مبنای ساختمان زایشی آنها می باشد. دیواره سلولی قارچ ها از جنس پلی ساکارید بوده، حاوی گلوکان، کیتین و گلیکوپروتئین های مختلف می باشد. نوع و میزان هر یک از این ترکیبات و نسبت آنها با یکدیگر، بسته به جنس و گونه قارچ فرق دارد [۳۱].

۲-۵-۲ ترکیبات موجود در قارچ

قارچ ها شامل ۸۰ تا ۹۰٪ آب، ۲ تا ۵٪ مواد پروتئینی، ۳٪ سلولز قارچی، ۴٪ ترهالوز، ۱٪چربی، ۱/۲ تا ۱۱/۲٪ مواد معدنی و مقدار متغیری گلیکوژن می باشد. عناصری مانند فسفر، گوگرد، منیزیم، روی، آهن، سدیم ، کلسیم ، مس و کلر مورد نیاز است.

۲-۵-۳ ساختار رویشی قارچ ها

توده قارچی مجموعه ریسه های میکروسکوپی است که در همه جهات شاخه تولید می کند. ریسه قارچ ممکن است توسط دیواره های عرضی موسوم به سپتوم در فواصل معین منقطع گردد. ریسه بسیاری از قارچ های عالی دیواره عرضی دارند اکثر قارچ های پست دیواره عرضی ندارند. دیواره عرضی در تامین حمایت فیزیکی و در تمایز سلولی ریسه اهمیت دارد مهم ترین اندام رویشی در قارچ ها ریسه است که رشته لوله مانند بسیار نازک و منشعب که مملو از سیتوپلاسم یک یا چند هسته ای

[1] Hypha
[2] Hyphae
[3] Septum
[4] Coenocytic

است. توده ای از این رشته های ظریف و منشعب مانند غنی به یکدیگر می تنند و میسیلیوم را که در واقع جسم قارچ است به وجود می آورند.

۲-۵-۴ مکانیسم جذب

ترکیبات مولکولی کوچک اسید آمینه ها و قندهای ساده که محلول هستند به طور مستقیم جذب هیف می شوند. مولکول های بزرگ تر نخست تحت تاثیر هضم اولیه آنزیم های ویژه ای قرار می گیرند. هضم کامل تر پلیمرهای بزرگ مرحله بعدی است. که آنزیم های بسیاری در آن دخیل هستند تا مولکول های قابل حل ساده ای به دست آید. این مولکول های ساده در نهایت جذب هیف قارچ می شوند [۳۱].

۲-۵-۵ آسپرژیلوس

یکی از شایع ترین قارچ های محیطی هستند به طوری که کونیدیای آنها را به آسانی می توان از سطح میوه ها، شیرینی ها، نان، مرکبات، سبزی ها به خصوص گوجه فرنگی، دانه های غلات، پسته و ... جدا نمود. آسپرژیلوس ها به راحتی قادر هستند در آب، خاک، روی نباتات، پوست و مخاط انسان و حیوانات رشد کنند. کونیدیاهای آنها به علت دارا بودن خاصیت آنتی ژنتیکی و انتشار وسیع محیطی، می توانند ایجاد بیماری های ازدیاد حساسیت را در افراد مستعد بنمایند. برخی از گونه های بسیار متداول آسپرژیلوس[۱] عبارتند از: A. niger , A. flavus , A. fumigatus و سایر گونه های این جنس پاتوژن های انسانی و حیوانی است و گروهی از بیماری ها به نام آسپرژیلوز[۲] ایجاد می کنند. در عین حال بعضی از گونه های آن چون فومیگاتوس و فلاووس قادرند، نه تنها در افراد مستعدی چون بیماران گرفتار نقص سیستم ایمنی ایجاد بیماری کنند، بلکه در کسانی هم که به دلائل شغلی (فروشندگان، کشاورزان، آسیابانان، قالی بافان، پسته چینان) و یا به هر دلیل دیگر در معرض تماس با

[۱] Aspergilluse
[۲] Aspergiloses

مقادیر زیاد کونیدیا قرار دارند نیز ایجاد عفونت های حاد را بنمایند. پاره ای از گونه های آسپرژیلوس چون فلاووس قادر به ایجاد متابولیت های سمی از قبیل آفلاتوکسین[۱] هستند که در بروز بیماری های مختلف چون سرطان کبد حائز اهمیت است. ولی بیماری زایی پاره ای دیگر از متابولیت ها چون آسپرژیلیک اسید[۲] ناچیز است.

رشد آسپرژیلوس ها بسته به گونه متغیر بوده ولی اغلب سریع رشد می کنند. کلنی آنها معمولاً مخملی تا پنبه ای و به رنگ های متنوع سفید، زرد، قهوه ای، خاکستری، سبز، صورتی، آبی، خرمائی و سیاه دیده می شوند. در واقع رنگ کونیدیاهای ارگانیسم تعیین کننده رنگ کلنی بوده و پشت کلنی غالباً بی رنگ است. ساختمان میکروسکوپی آن از میسلیوم های رویشی منشاء می گیرند که به خاطر شکل خاصی که دارد به نام سلول پا [۳] خوانده می شوند[۳۱].

۲-۵-۵-۱ آسپرژیلوس نایجر

آسپرژیلوس های سیاه یا آسپرژیلوس نایجر، قارچ هایی هستند که کپک سیاه نیز نامیده می شوند. این قارچ ها اغلب روی مواد خوراکی رشد کرده و آنها را فاسد می کنند. میسلیوم شبیه سایر قارچ ها است و هیف ها به خوبی رشد کرده، بسیار شاخه دار دارای دیواره و هیالین[۴] هستند. در تولید اسید سیتریک و تخمیر سس سویا به کار می‌رود.

مشخصات کلنی: کلنی آنها با منظره دانه ای، سطح صاف و دانه های سیاه مشخص می شوند. کلنی ممکن است در ابتدا کاملاً سفید باشد و با پیدایش کونیدی تدریجاً دانه های سیاه رنگ در سطح کلنی ایجاد گردد. پشت کلنی سفید یا بی رنگ است.

خصوصیات میکروسکوپی: میسلیوم های رویشی اغلب بی رنگ و انواع زایشی قهوه ای تیره یا سیاه رنگ هستند. ویزیکول ها بلند و کروی شکل می باشند (به قطر ۶۰ تا ۸۰ میکرو متر) که کونیدی

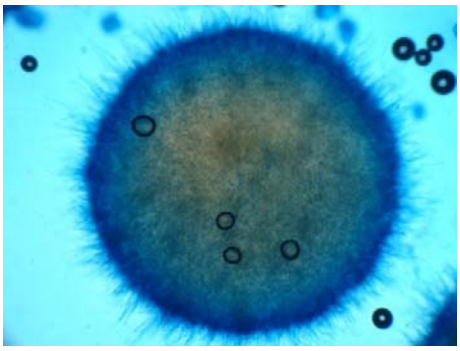
[۱] Aflatoxin
[۲] Aspergillique acid
[۳] Foot cell
[۴] Hyoline

های سیاه با دیواره خشن در اطراف آن اشعه وار قرار گرفته اند. به طوری که ویزیکول و فیالید اغلب به سختی قابل رویت است. فیالیدها ممکن است یک ردیفی یا دو ردیفی باشند [۳۳و۳۲].

۲-۵-۶ قارچ Phanerochaete chrysosporium

این قارچ جزء خانواده بازیدیومیت ها است و قارچ سفید رنگی است که آنزیم خارج سلول ترشح می کند که به علت دارا بودن پتانسیل بالا از نظر تکنولوژی در آینده در صنایع مختلف از جمله کاغذ سازی، صنایع نساجی، و صنایع شیمیایی ترکیبات محیطی و ... به علت تجزیه مواد آروماتیک، رنگ ها، پلیمرها، مواد شیمیایی گزنوبیوتیک ها و ... نقش مهمی را به عهده خواهد داشت. آنزیم های خارج سلولی عوامل اکسیداسیونی هستند (پراکسید هیدروژن، رادیکال های هیدروکسیل) که برای شکستن پیوندهای لیگنین به کار می روند [۳۴].

این قارچ دو ویژگی مهم دارد که آن را بسیار مفید کرده است. اول اینکه برخلاف برخی قارچ های سفید، سلولز چوب را دست نخورده باقی می گذارد. دوم اینکه، دمای بهینه خیلی بالایی دارد (نزدیک ۴۰ درجه سانتی گراد) ، که به این معنی است که می تواند روی ورقه های چوب در کپه های مواد نباتی رشد کند.، که دمای بالایی دارند. این ویژگی ها به کاربرد در بیوتکنولوژی منجر می شود. شکل (۲-۱) تصویر میکروسکوپی از قارچ Phanerochaete chrysosporium را نشان می دهد.



شکل (۲-۱) تصویر میکروسکوپی از قارچ Phanerochaete chrysosporium

۲-۵-۶-۱ ساختار سلولی و متابولیسم

این قارچ یک قارچ پوسته ای است که به جای ساختار قارچی هاگدان های مولد فتیله ای مسطح ایجاد می کند. شبکه هایفا در این قارچ شاخه هایی با ضخامت ۳ تا ۹ میکرو متر دارد.
تجزیه لیگنین و آلاینده ها توسط تولید آنزیم های خارج سلولی ممکن است. ترکیباتی مثل پراکسید لیگنین و پراکسید منگنز در تصفیه مواد مختلفی مثل سموم ضد آفت، هیدروکربن های پلی آروماتیک، PCBs[1]، TNT، تتراکلرید کربن و سموم مختلف نقش دارند.

به علت پایداری این قارچ در درجه حرارت های متوسط به بالا، به طور خاص درجه حرارت ۴۰ درجه سلسیوس، این قارچ سفید رنگ می تواند در جنگل های شمال آمریکا تا مناطق اروپایی و در ایران یافت شود. یک نقش اصلی این قارچ تجزیه لیگنین از درخت ها و گیاهان مختلف است. این فرآیند لیگنین را به مولکول های ساده تری که در سیکل تجزیه گیاهان باقی می مانند، می شکند.

۲-۵-۶-۲ آسیب شناسی

این قارچ ساپروفیت است و قادر به تجزیه آلی قسمت های چوبی گیاهان مرده است. بنابراین، گیاهانی که در فرآیند مردن هستند یا مرده اند به عنوان یک سفره بهینه برای این قارچ محسوب می شوند. این قارچ برای انسان ها و حیوانات خطری محسوب نمی شود.

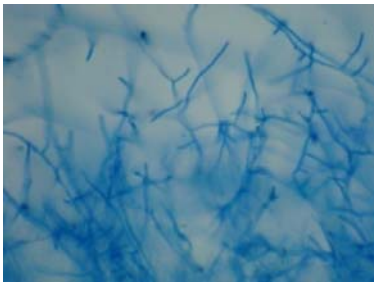
۲-۵-۶-۳ کاربرد در بیوتکنولوژی

این قارچ نه تنها به دلیل تجزیه بیولوژیکی مواد شیمیایی مضر توسط آنزیم های خارج سلول، مفید است بلکه قادر به باقی گذاشتن سلولز سفید خالص است که در صنایع کاغذ سازی مهم است. تولید کاغذ به روش بیولوژیکی استفاده از ماشین هایی را که برای زدایش لیگنین قهوه ای استفاده می شدند متوقف کرده زیرا که این قارچ به طور طبیعی این کار را انجام می دهد. الحاق این آلترناتیو

[1] Polychlorinated biphenyls

طبیعی میزان آلودگی را که توسط ماشین هایی که قبلاً برای این کار طراحی شده بودند محدود کرده و همچنین، میزان مواد شیمیایی به کار برده شده برای سفید کردن کاغذ را کاهش می دهد. برخی محدودیت های استفاده از این قارچ در تولید کاغذ شامل این واقعیت است که خمیر کاغذ یک محصول نسبتاً ارزان قیمت است و هوازدگی قارچ ممکن است گران باشد، بسیاری از قارچ ها ممکن است سرعت رشد پایین داشته باشند و ورقه های بزرگ چوب نسبت به انتشار مقاوم هستند.

تحقیقات وجود گروه های پایه کربوکسیلات و فسفات و آمین در دیواره سلول های قارچ باعث شده این قارچ توانایی ویژه ای در جذب فلزات سنگین داشته باشد . دارا بودن بار منفی در دیداره سلولی باعث جذب کاتیون های مثبت فلزی می شود و حضور بارهای منفی در جذب اکسی آنیون هایی مثل کرومات و بی کرومات کمک می کند. همچنین لیگینین موجود در این نوع قارچ در طبیعت نقش کلیدی را بازی می کند. در بعضی موارد نوع غیر زنده میکروارگانیسم جذب بهتری نسبت به نوع زنده آن دارد [۳۶،۳۵ و ۳۷]. شکل (۲-۲) میسلیوم در قارچ را نشان می دهد. میسلیوم اندام رویشی قارچ است که جسم قارچ را تشکیل می دهد.



شکل (۲-۲) میسلیوم در قارچ Phanerochaete chrysosporium

۲-۶ انواع روش های کشتن میکرواورگانیسم ها

- اتوکلاو کردن در دمای $121^{o}C$ و فشار psi ۱۸ به مدت min ۳۰، خشک کردن توده به دست آمده در آون $60^{o}C$ برای ۱۲ ساعت. این عمل راندمان پایینی دارد.
- جوشاندن توده میکروبی به مدت min ۱۵ در mL ۵۰ محلول سدیم هیدروکسید N ۰/۵. این روش راندمان بالایی در جذب دارد .
- جوشاندن بایومس در ٪۵۰ (V/V) محلول دی متیل سولفوکسید .
- جوشاندن بایومس در mL ۵۰۰ محلول آبی که ۲/۵ گرم ماده شوینده و یا ماده پاک کننده در آن حل شده باشد این روش هم راندمان نسبتاً خوبی دارد.
- جوشاندن بایومس در mL ۵۰۰ محلول ٪۱۵ (V/V) فرمالدئید به مدت ۱۵ دقیقه این روش راندمان جذبی بسیار بالایی دارد ولی به دلیل خطرناک بودن فرمالدئید کمتر استفاده می شود.
- جوشاندن بایومس در mL ۵۰۰ محلول ٪۱۰ (V/V) استیک اسید و فسفریک اسید.
- جوشاندن در mL۵۰۰ محلول آمونیوم پر سولفات به مدت ۱۵ دقیقه.
- رفلاکس کردن بایومس درmL۲۰۰ اتانول که راندمان نسبتاً خوبی دارد. برای بهینه سازی جذب فلزات سنگین توسط گونه های میکروبی می توان آنها را بر روی بستر مناسب ثبیت نمود [۳۸].

۲-۷ تجهیزات و آرایش فرآیند

فرآیند بازیافت فلز با استفاده از مواد جاذب بیولوژیکی اساساً یک فرآیند تماس جامد- مایع است که شامل سیکل جذب و باز جذب فلز می باشد. در شکل تکنولوژیکی، این فرآیند بسیار مشابه فرآیند تبادل یونی و کربن فعال می باشد. محلول حاوی فلز با فاز جاذب جامد تحت آرایش ناپیوسته، شبه پیوسته یا پیوسته، در تماس است. تماس مناسب بین محلول و فاز جامد می تواند در هر یک از حالات زیر اتفاق افتد:

- راکتورهای ناپیوسته مخزنی با همزن[۱]
- راکتورهای جریان پیوسته مخزنی با همزن[۲]

که هر دو با اتصال به یک عملیات جداسازی جامد-مایع تبدیل به حالت های زیر می شوند:

- راکتورهای با بستر ثابت[۳]
- راکتورهای با بستر جنبنده[۴]
- راکتورهای با بستر سیال[۵]
- راکتورهای چند بستری[۶]

۲-۷-۱ راکتورهای ناپیوسته با همزن

جاذب های گرانوله یا در این مورد حتی جاذب های پودر شده که کارآمدتر هستند با مایع حاوی فلز در حالت سوسپانسیون که به میزان مورد نیاز برای همگن شدن و انتقال جرم بین فازهای جامد و مایع هم زده می شود، در تماس قرار می گیرد.

۲-۷-۲ راکتورهای جریان پیوسته

ظرف مورد استفاده می تواند مشابه سیستم ناپیوسته باشد ولی یک جریان پیوسته از محلول حاوی فلز وجود دارد. محلول به طور پیوسته عبور کرده تا جاذب ناکارآمد شود.

۲-۷-۳ راکتورهای با بستر ثابت

این راکتورها با یک آرایش ستونی نمایش داده می شوند که گرانول های جاذب روی یک بستر ثابت قرارگرفته اند. محلول معمولاً روی بستر به سمت پایین می چکد. قسمت بالایی بستر به طور طبیعی

[۱] Batch-stirred tank contactor
[۲] Continuous-flow stirred-tank contactor
[۳] Fixed packed-bed contactor
[۴] Pulsating-bed contactor
[۵] Fluidized-bed contactor
[۶] Multiple-bed contact arrangement

با غلظت بیشتری از فلز تماس دارد و زودتر اشباع می شود. زمانی که همه بستر اشباع شد، ستون خاصیت جذب خود را از دست می دهد و جاذب ها باید احیا شوند [۴].

۲-۸ بهینه سازی روش جذب بیولوژیکی

برای بهتر شدن روش های جذب بیولوژیکی می توان از روش تثبیت در بستر همچنین استفاده از سیستم پیوسته (ستون) استفاده نمود [۳۹].

۲-۸-۱ بایومس های تثبیت شده برای راکتورهای بیولوژیکی :

با یک دید کلی از جاذب های میکروبی و پساب های زیستی می توان نتیجه گیری کرد که به علت این که آنها دارای قابلیت باند شدن فلزی خوبی هستند، می توانند به صورت تکراری مورد استفاده قرار گیرند. ضرورتاً نیاز اصلی یک سیستم جذب کننده صنعتی این است که جاذب بتواند به صورت یک بستر فیکس شده یا گسترش یافته مورد استفاده قرار گیرد و فشار زیادی را در بستر ایجاد نکند که مستلزم درجه ای از پیش تیمار[۱]، سایزبندی، تغییرات شیمیایی یا تثبیت کردن باشد. این مسئله برای به دست آوردن یک ساختار مناسب جهت استفاده در راکتورهای بستر مورد هدف قرار گرفته و ممکن است جایگاه های اتصال ویژه فلزات را زیاد کند.

به منظور حفظ قابلیت جذب فلزات توسط بایومس باکتریایی در طی فرآیندهای پیوسته صنعتی استفاده از یک تکنیک تثبیت کننده اقتصادی مهم است. سلول های آزاد می توانند اطلاعات با ارزشی را در تست های آزمایشگاهی ارائه دهند اما برای ایجاد ستون فشرده در کاربرد های صنعتی مناسب نیستند سلول های آزاد معمولاً دارای قدرت و نیروی مکانیکی کم و اندازه کوچک می باشد و فشار هیدروستاتیک زیادی برای تولید میزان جریان مناسب نیاز دارند. فشارهای بالا می تواند باعث تجزیه بایومس آزاد شود این مشکلات می تواند به وسیله استفاده از سیستم های سلولی تثبیت کننده برطرف شود.

[۱] Pretreatment

بایومس تثبیت شده دارای مزایای بسیاری نظیر قابلیت استفاده مجدد بهتر، بارگیری بیشتر بـایومس و کاهش انسداد در سیستم های جاری پیوسته می باشد .

تعدادی ماتریکس برای تثبیت سلول ها به کار گرفته شده است. یکی از ماتریکس هایی که در بازیافت فلزات به وسیله هر دو سلول های زنده و غیر زنده استفاده می شود، محصور کردن در ماتریکس کلسیم آلژینات نامحلول است.

بسترهای روان و سیال حاوی سلول های A. niger و P. chrysosporium محصور شده توسط کلسیم آلژینات به طور موفقیت آمیزی برای بازیافت روی، کروم ، مس، منگنز، وانادیم وسرب از محلول استفاده شده است . همچنین بستر های حاوی سلول های Chlorella vulgaris به طور موفقیت آمیزی برای بازیافت طلا از یک محلول حاصل از فرآیند برداشت طلا شامل کلرید روی، کلرید آهن، کلرید مس، کلرید طلا استفاده شده است.

Rhizopus Arihizus محصور شده در دانه های آلیژینات به طور موفقیت آمیزی برای برداشت بیشتر اورانیم روی سیکل های جذب و حذف چند تایی استفاده شده است.

تجمع، به چگالی (غلظت) سلول ها در دانه های آلژینات وابسته است. تعدادی از ماتریکس های مورد استفاده جهت تثبیب میکروارگانیسم ها به طور خلاصه در جدول (۲-۱) آمده است:

جدول (۲-۱) مواد زمینه تثبیت کننده مورد استفاده برای مطالعه جذب فلزات [۳۹]

فلزات جذب شده	نوع بایومس	مواد زمینه تثبیت کننده
Au, Cu, Fe, Zn, Cr, Pb, Co, Mn	کلرلابولگاریس، اسپیرولینا پلاتنسیس، ریزو پوس ارهیزوس، آسپرژیلوس نایجر، فنروکیت کریزوزپوریوم، کلرلاسالینا	کلسیم آلژینات
U, Pb, Cd, Cu, Co, Zn	سیترو باکتر، ریزو پوس آرهیزوس	ژل پلی اکریلامیت
Cu, Ni, U, Pb, Hg, Cd, Zn, As	الگاسرب	سیلیکا
Pb, Zn, V, Cd, Cr	سیترو باکتر، آسپرژیلوس نایجر	پلی سولفان

۲-۸-۲ روش های تثبیت سلولی

برای تثبیت سلولی روش های فراوانی وجود دارد. بسیاری از آنها مستقیماً از تکنولوژی آنزیم های بی حرکت استفاده می کند. انتخاب روش مناسب بستگی به وضعیت فیزیولوژیکی سلول دارد.

تکنیک های فعالی که پذیرفته شده اند و می توانند در هر موقعیت فیزیولوژیکی مورد استفاده قرار گیرند و آسان تر و ارزان تر عمل کنند به شرح زیر است: [۴۰]

۱- روش چسباندن

۲- روش تله گذاری

۳- روش محدود کردن سلول ها

۴- روش اجتماع سلولی

روش مورد استفاده در این تحقیق تله گذاری می باشد که به شرح آن می پردازم:

۲-۸-۳ تثبیت میکرواورگانیسم در بستر(کلسیم آلژینات)

سلول های متنوعی مانند باکتری ها، مخمرها، قارچ ها، بافت های گیاهی، بافت های پستانداران و حشرات برای تثبیت مورد استفاده قرار می گیرند. میکروارگانیسم های برتر مثل باکتری ها، مخمرها و قارچ ها ترجیحاً از طریق ژل های آلژینات کلسیم با استفاده از تکنیک مشابه تثبیت آنزیمی به دام می افتند. از محیط های تثبیت کننده دیگر می توان پلی اکریل امید، ژلاتین و ژل های کاراگینان کا[۱] و چیتوسان[۲] را نام برد. هر چند انتخاب های درست و مناسبی از تکنیک های تثبیت و مواد نگهدارنده برای به حداقل رساندن وضعیت های تثبیت مورد نیاز می باشد یکی از روش های مناسبی که بیشتر برای تثبیت سلولی مورد استفاده قرار می گیرد، به تله انداختن سلول ها در کلسیم آلژینات است که علت استفاده از آن ارزان و ساده بودن تکنیک و امکان استفاده مجدد و مکرر از آن می باشد.

[۱] k-carrageenan gels
[۲] chitosan

گویچه های کلسیم آلژینات به طور وسیع برای به تله انداختن سلول های قارچی و باکتریایی مورد استفاده قرار می گیرد. در واقع کلسیم آلژینات از ترکیب کردن سدیم آلژینات با کلرید کلسیم حاصل می شود. در واقع این بستر از یک ماده ژلاتینه از گیاهان دریایی می باشد که به تنهایی اثری در جذب فلزات ندارد .

سدیم آلژینات نیز یک ماده بیولوژیکی غیر سمی است که به سهولت نیز در دسترس است بنابراین به عنوان یک ماده زمینه برای تثبیت ملکول های زیستی و میکروارگانیسم ها مناسب می باشد.

ترکیب شیمیایی سدیم آلژینات، نمک سدیم به دست آمده از اسید آلژنیک می باشد که فرمول شیمیایی آن $NaC_6H_7O_6$ می باشد. این ترکیب به حالت صمغی می باشد و از دیواره سلولی جلبک های قهوه ای استخراج می شود و توسط کارخانه های مواد غذایی به منظور بالا بردن ویسکوزیته و نیز به عنوان امولسیفایر استفاده می گردد. این پودر به رنگ زرد متمایل به قهوه ای و به حالت گرانول یا پودری شکل می باشد. این پودر به آهستگی در آب حل شده و به حالت محلول ویسکوز در می آید [۳۹]. شکل (۲-۳) تصویری از گویچه های آلژینات را نشان می دهد.

شکل (۲-۳)گویچه های آلژینات

۲-۹ روش ها و وسایل اندازه گیری فلزات در نمونه های بیولوژیکی و شیمیایی

حتی امروزه نیز با وجود بهره مندی محققین از مزایای ناشی از دسترسی به تجهیزات آزمایشگاهی مدرن، برخی از آنها در تعیین میزان فلزات موجود در نمونه های بیولوژیکی بطور دقیق و صحیح دچار مشکل می شوند . شیمی دانان در ابتدا با تکیه بر فنون سنجش وزنی کاری به مراتب دشوارتر

پیش رو داشته اند. تعیین میزان برخی از فلزات سنگین موجود در مواد و نمونه های بیولوژیکی چالش های خاصی را می طلبد . دلیل این امر سهولت و آسانی هدر رفتن آن حین آماده سازی نمونه می باشد. روش های مورد استفاده برای تعیین غلظت فلزات سنگین در نمونه های بیولوژیکی و شیمیایی به شرح ذیل می باشد [۴۲ و ۴۱].

۲-۹-۱ روش های تجزیه وزنی

نمونه های حاوی فلز با غلظت های بالا که قادر به تشکیل رسوب فلز به شکل عنصری، سولفیدی، نمک های فلزات سنگین یا کمپلکس های آلی باشند، می توانند به روش های وزن سنجی مورد تجزیه قرار گیرند. روش های تیتراسیون از نوع ید سنجی، نقره سنجی، کاهش پرمنگنات پتاسیم و تیتراسیون های معکوس به همراه تیواوره یا تیوسولفات سدیم نیز می توانند به کار برده شوند. متخصصان علم تغذیه معمولاً به واسطه سروکار داشتن با غلظت های اندک فلزات سنگین چندان علاقه ای به روش های سنجش وزنی یا سنجش حجمی یا روش های رنگ سنجی که بیشتر به طور گسترده توسط متخصصان کشاورزی به کار برده می شوند، ندارند. از روش های سنجش حجمی برای تعیین میزان سلنیم موجود در نمونه های معدنی نظیر لجن آندی معدن مس نیز می توان استفاده کرد [۴۳ و ۳۹].

۲-۹-۲ فنون تجزیه دستگاهی

روش های دستگاهی مخصوصا روش جذب اتمی تکنیک های دقیق و قابل اطمینانی جهت سنجش فلزات به طور دقیق می باشند. اما بسته به نوع فلز و مقدار قابل محاسبه دستگاه مورد نظر انتخاب می شود . انتخاب نوع دستگاه مورد استفاده برای تعیین میزان فلز به فاکتورهای متعددی بستگی دارد که عبارتند از [۴۴ و ۴۳]:

الف) ماهیت نمونه های که باید تجزیه شوند.

ب) میزان دقت و حساسیت مورد نیاز.

ج) تعداد نمونه ها و این که چه عناصر دیگری نیز در نمونه حضور دارند و باید تعیین شوند.

د) هزینه لازم و مقدار سرمایه ای که شخص تجزیه گر در اختیار دارد.

روش های دستگاهی عبارتند از:

- فلوئورسانس سنجی
- طیف نور - سنجی جذب اتمی با کوره گرافیتی
- طیف نور - سنجی جذب اتمی با تولید هیدرید
- تجزیه فعال سازی نوترون دستگاهی
- تجزیه فعال سازی نوترون پرتو شیمیایی
- طیف سنجی جرمی رقیق سازی ایزوتوپ
- فلوئورسانس پرتو ایکس
- طیف نور – سنجی جذب اتمی با شعله
- اسپکتروفتومتری
- پلاروگرافی
- ولتامتری
- کروماتوگرافی
- طیف سنجی نشر اتمی

علاوه بر روش های فوق، تکنیک های دیگری نیز وجود دارند که نسبت به این روش ها اهمیت کمتری دارند. در این مبحث به شرح دو دستگاه مورد استفاده در آزمایشات انجام شده می پردازیم.

۲-۹-۲-۱ دستگاه طیف سنجی جذب اتمی (AAS)

طیف سنجی جذب اتمی در یکی از اشکال متنوعش، متداول ترین تکنیک مورد استفاده در تعیین مقادیر کم فلزات می باشد که حائز اهمیت است. کاربرد روش (AAS) از زمانی که برای نخستین بار در اواسط دهه ۱۹۵۰ توسط والش[۱] معرفی گردید، به میزان قابل توجهی افزایش یافته است. AAS تکنیکی عامه پسند است و این به واسطه سهولت نسبی استفاده از آن حتی توسط محققینی است که پیشتر به عنوان تجزیه گر آموزش ندیده اند . مارک های تجاری بسیار متفاوتی از این دستگاه ها از مدل های دستی ساده و نسبتاً ارزان تا انواع بسیار پیچیده، گرانبها و تمام خودکار وجود دارند . جزئیات کاملی از تئوری ASS و طرح های متفاوتی از دستگاه های مربوط به آن را می توان در کتاب های مرجع مناسب یافت [۴۲].

در روش FAAS از هیدروژن، استیلن یا شعله گازی دیگری برای اتمی کردن نمونه ها استفاده می گردد. این روش روشی سریع و نسبتاً حساس است که تشخیص مقادیر بسیار کمی از عناصر را در محدوده mg/L امکان پذیر می سازد. برای سنجش روی، سرب و کروم از شعله استیلن – هوا استفاده شده است و دستگاه برای محلول های نمکی نیتراته جواب بهتری دارد. در مورد اندازه گیری روی و سرب هیچ تداخلی وجود ندارد. اما در سنجش کروم وجود عناصری مثل آهن، کبالت، نیکل، باریم، آلومنیوم و سدیم در اندازه گیری کروم تداخل می کنند، این اثرات با استفاده از لامپ نیتروز اکسید – استیلن قابل حذف است .

۲-۹-۲-۲ اسپکتروفتومتری (UV)

این دستگاه با اندازه گیری جذب تابش های ماوراء بنفش و مرئی راه مناسبی را برای تجزیه تعداد بیشماری از گونه های آلی و معدنی فراهم می آورد تابش در این نواحی دارای انرژی کافی برای انتقالات الکترونی الکترون های والانس در لایه های بیرونی است. در واقع داده های این دستگاه

[۱] Walsh

میزان جذب را در طول موج مورد نظر مشخص می کند با استفاده از استاندارد و رسم منحنی کالیبراسیون می توان با توجه به غلظت نمونه های معلوم نسبت به عددهای جذبی به دست آمده غلظت فلز مجهول را به دست آورد. این دستگاه به محلول های رنگی حساس است برای اندازه گیری فلزات توسط این دستگاه باید از معرف های رنگی این فلزات استفاده کرد [۳۹].

فصل سوم

مواد و روش ها

۳-۱ آنالیز زهاب

مخزن های ۲۰ لیتری از زهاب معدن مس سرچشمه که تحت شرایط استاندارد نمونه گیری شده در ۵ نوبت به آزمایشگاه منتقل شد و پارامتر های فیزیکی و شیمیایی آن به شرح زیر تعیین گردیدند:

۳-۱-۱ سختی آب

سختی آب از روی اندازه گیری ظرفیت آب برای رسوب دادن صابون سنجیده می شود. سختی آب ها به کاتیون های دو ظرفیتی یا بیشتر اطلاق می شود ولی به طور عمده غرض از سختی، وجود یون های کلسیم و منیزیم می باشد. غلظت این یون ها بر حسب $mg/L\ CaCO_3$ محاسبه می شود.

۳-۱-۱-۱ سختی موقت یا سختی ناپایدار

سختی موقت عبارت است از آن بخشی از سختی که هم ارز با یون های کربنات و بی کربنات می باشد. علت این نام گذاری وجود کربنات و بی کربنات های کلسیم و منیزیم در آب است که گرچه سختی به حساب می آیند ولی طبق واکنش زیر در اثر حرارت تجزیه می گردند و در نتیجه آن کلسیم به صورت کربنات و منیزیم به صورت هیدروکسید، رسوب می نماید (رابطه۳-۱).

$$2HCO_3^- \rightarrow CO_3^{2-} + H_2O + CO_2 \qquad (۱-۳)$$

بدین ترتیب در صورتی که میزان کل سختی (بر حسب کربنات کلسیم) بیش از مقدار قلیائیت کل (بر حسب کربنات کلسیم) باشد، مقدار قلیائیت مشخص کننده سختی موقت و باقیمانده سختی را که هم ارز سایر آنیون ها است، دائم می نامند.

۳-۱-۱-۲ سختی دائم

سختی دائم آب مربوط به آن قسمت از ترکیبات کلسیم و منیزیم می باشد که با حرارت دادن آب رسوب نمی کنند. در صورتی که مقدار کل سختی کمتر از قلیائیت کل باشد، سختی دائم وجود ندارد و تمام سختی به صورت موقت است. [۴۵]

۳-۱-۱-۳ طرز تعیین میزان سختی

در صنعت معمولاً با روش های زیر سختی یک نمونه آب را اندازه گیری می کنند:

الف- تعیین سختی به روش محاسبه: در صورتی که میزان کاتیون ها و آنیون های آب توسط روش های دیگر تجزیه اندازه گیری شده باشد، سختی آب از طریق محاسبه و با دقت بیشتری به دست می آید.

ب- روش های دستگاهی: شامل جذب اتمی و الکترودهای انتخاب گر یونی که در موارد ویژه استفاده می شوند.

ج- روش تیتراسیون EDTA: در این روش برای اندازه گیری یون های کلسیم و منیزیم از تیتراسیون تشکیل کمپلکس استفاده می شود. این روش یک تجزیه سریع و ساده را برای تعیین سختی آب ممکن می سازد.

۳-۱-۱-۴ اندازه گیری سختی به روش تیتراسیون کمپلکسومتری

مواد لازم برای اندازه گیری سختی به روش تیتراسیون کمپلکسومتری به شرح ذیل است:

۱- محلول استاندارد EDTA ۰/۰۱ مولار (اتیلن دی آمین ترا استیک اسید)

۲- محلول تامپون pH =۱۰ (از نمک کلرید آمونیوم و آمونیاک)(به میزان ۱۰۰ میلی لیتر)

۳- معرف مورکسید (جامد)- (۱۰۰ میلی گرم مورکسید را با ۵۰ گرم NaCl مخلوط می نمایند.)

۴- معرف اریوکروم بلاک T(جامد)- (۰/۰۵ گرم اریوکروم بلاک T معمولاً با ۱۰ گرم از نمک NaCl مخلوط می گردد.)

برای تهیه محلول تامپون ۱۰، ۹/۳۹ گرم کلرید آمونیوم را در مقداری آب حرارت می دهند تا حل شود. سپس آن را داخل بالون ژوژه ریخته و ۷۴/۹ میلی لیتر آمونیاک به آن می افزاییم و حجم آن را به ۱ لیتر می رسانیم.

روش کار:

الف- سختی کل

۲۵ تا ۳۰ میلی لیتر از نمونه را داخل ارلن ریخته و به آن یک سر اسپاتول معرف اریوکروم بلاک T (E.B.T) و ۱ میلی لیتر بافر ۱۰ اضافه می گردد. رنگ قرمز نشانه سختی آب (نمونه) می باشد. این نمونه با EDTA با غلظت ۰/۰۱ مولار تیتر می گردد. هنگامی که رنگ نمونه از بنفش به آبی پاک تغییر کرد، عدد (مقدار) EDTA مصرفی قرائت می شود.

ب- اندازه گیری کلسیم و منیزیم

۲۵ تا ۳۰ میلی لیتر از نمونه را داخل ارلن ریخته و یک حبه سود (گرانول سود) به آن اضافه می گردد (بافر ۱۳). پس از افزودن یک سر اسپاتول معرف مورکسید به آن، با EDTA تیتر می شود. هنگامی که نمونه از قرمز شرابی به بنفش تغییر رنگ داد، تیتراسیون متوقف می شود. روابط (۳-۲)، (۳-۳) و (۳-۴) نحوه محاسبه سختی کل، مقدار کلسیم و منیزیم زهاب را نشان می دهند [۴۵]:

$$\text{سختی کل بر حسب } CaCO_3\ mg/L = \frac{A \times B \times ۱۰۰۰ \times ۱۰۰}{V} \qquad (۳-۲)$$

$$\text{مقدار کلسیم } mg/L = \frac{A' \times B \times ۱۰۰۰ \times ۴۰}{V} \qquad (۳-۳)$$

$$\text{مقدار منیزیم } mg/L = \frac{(A - A') \times B \times ۱۰۰۰ \times ۲۴}{V} \qquad (۳-۴)$$

که در آن:

A: حجم تیتر کننده مصرفی برای V میلی لیتر نمونه در حضور معرف E.B.T

A´: حجم تیتر کننده مصرفی برای V میلی لیتر نمونه در حضور معرف مورکسید

B: غلظت مولار محلول تیتر کننده EDTA

۳-۱-۲ قلیائیت

قلیائیت یک محلول نمایانگر ظرفیت آن برای خنثی کردن اسید افزوده شده تا رسیدن به pH حدود ۴/۵ است. هر چه قلیائیت نمونه بیشتر باشد ظرفیت تامپونی آن بیشتر است. بنابراین دانستن قلیائیت محلول، مکمل دانستن pH آن می باشد، چون pH محلول معرف قدرت اسیدی آن بوده ولی قلیائیت محلول، معرف مقاومت آن در برابر تغییرات pH است. قلیائیت محلول، برابر مجموع یون های بی کربنات و هیدروکسید است. غلظت آنیون های دیگر چون فسفات یا سیلیکات در مقایسه با غلظت این سه یون قابل صرف نظر کردن هستند [۴۶].

در آنالیز زهاب، نه فقط دانستن مجموع غلظت آنیون های تشکیل دهنده قلیائیت مهم است بلکه دانستن غلظت هر یک از آنیون ها هم مهم است. از این رو با اندازه گیری دو نوع قلیائیت غلظت هر یک از سه آنیون تشکیل دهنده قلیائیت مشخص می شود

دو نوع قلیائیت عبارتند از:

۱- قلیائیت ساده یا قلیائیت نسبت به فنل فتالئین

۲- قلیائیت کل یا قلیائیت نسبت به متیل اورانژ

۳-۱-۲-۱ اندازه گیری قلیائیت

قلیائیت را نسبت به دو شناساگر فنل فتالئین و متیل اورانژ می سنجند. برای ساختن شناساگر فنل فتالئین، ۰/۱ گرم فنل فتالئین در ۱۰۰ میلی لیتر اتانول حل می گردد. برای ساخت شناساگر متیل اورانژ، لازم است ۰/۱ گرم متیل اورانژ در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شود.

تعیین قلیائیت نسبت به فنل فتالئین:

حجم مشخص از نمونه زهاب را برداشته (۲۵ میلی لیتر) و ۵ قطره معرف فنل فتالئین به آن اضافه می گردد.

الف- اگر نمونه بی رنگ شود، $pH <$ ۸ خواهد بود یعنی نمونه یا اسیدی است یا عوامل قلیایی ندارد.

ب- اگر نمونه ارغوانی شد $pH >$ ۸ است و باید نمونه با اسید سولفوریک ۰/۰۲ نرمال تیتر گردد تا بی رنگ شود. مقدار اسید مصرفی را در فرمول (۳-۵) قرار داده و بدین ترتیب قلیائیت نسبت به فنل فتالئین به دست می آید.

$$P = \frac{V_P \times ۵۰۰۰ \times N}{V_S} \quad \text{mg/L } CaCO_۳ \qquad (۵-۳)$$

که در آن:

V_p: حجم اسید مصرفی در حضور فنل فتالئین

V_s: حجم نمونه

N: نرمالیته اسید

تعیین قلیائیت نسبت به متیل اورانژ

حجم مشخص از نمونه زهاب را برداشته (۲۵ میلی لیتر) و ۵ قطره معرف متیل اورانژ به آن اضافه می گردد. در این صورت مشاهدات زیر انجام می گیرد:

الف- اگر قرمز گلی شد، یعنی نمونه در مرز خنثی یا اسیدی می باشد. (pH = ۴/۵)

ب- اگر قرمز شد یعنی pH < ۴/۵ است و زهاب، عوامل قلیایی ندارد.

ج- اگر نارنجی شد یعنی pH >۴/۵ است و زهاب عوامل قلیایی دارد. سپس، نمونه با اسید سولفوریک ۰/۰۲ نرمال تیتر می گردد. رنگ زرد نارنجی باید به رنگ نارنجی تغییر یابد.

عمل تیتراسیون باید در حضور شاهد صورت گیرد تا تشخیص رنگ، آسان و دقیق باشد. برای ساخت نمونه شاهد، به اندازه حجم نمونه زهاب (۲۵ میلی لیتر) آب مقطر را با ۵ قطره متیل اورانژ و ا میلی لیتر محلول بافر pH = ۴/۵ مخلوط می نماییم.

حجم اسید مصرفی را در فرمول (۳-۶) قرار داده و قلیائیت نسبت به متیل اورانژ به دست می آید:

$$T = \frac{V_T \times ۵۰۰۰ \times N}{V_S} \quad \text{mg/L } CaCO_۳ \qquad (۶-۳)$$

که در آن:

V_p: حجم اسید مصرفی در حضور متیل اورانژ

V_s: حجم نمونه

N: نرمالیته اسید

طرز تهیه محلول بافر pH =۴/۵:

۲۸/۷۵ میلی لیتر اسید استیک غلیظ به همراه ۳۷/۶۹ گرم استات سدیم که در مقداری آب حل شده، در بالون ژوژه ۵۰۰ میلی لیتری ریخته و به حجم می رسانیم.

۳-۱-۳ تعیین اکسیژن محلول در آب

اندازه گیری اکسیژن محلول، هم از لحاظ صنعتی و ایجاد خوردگی و هم از لحاظ سنجش بار آلودگی و فعالیت های زیستی دارای اهمیت می باشد. دو روش کلی برای این سنجش معرفی می شود: روش سنجش حجمی (تیتراسیون یدو متری) و روش سنجش الکتریکی (آمپرسنجی) [۴۵].

۳-۱-۳-۱ روش یدومتری(Winkler)

مواد لازم برای تعیین اکسیژن محلول به روش یدومتری به شرح ذیل است:

۱- محلول سولفات منگنز: ۴۰ گرم سولفات منگنز دو آبه (یا معادل آن) را در آب مقطر حل کرده و به حجم ۱۰۰ میلی لیتر می رسانیم.

۲- واکنشگر یدور قلیایی: ۵ گرم سود (NaOH) و ۱/۵ گرم KI را در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل کرده، یک گرم سدیم آزید (یا معادل آن پتاسیم آزید) را در حدود ۵ میلی لیتر آب حل نموده و به محلول قبلی می افزاییم.

۳- محلول استاندارد سدیم تیوسولفات ۰/۱ نرمال: ۲۴/۸۲ گرم سدیم تیو سولفات ۵ آبه را در آب مقطر حل کرده و به حجم ۱ لیتر می رسانیم. از این محلول، به صورت زیر، تیتر کننده ۰/۰۲۵ نرمال تهیه می گردد(رابطه ۳-۷):

$$N_1V_1 = N_2V_2 \qquad (۳-۷)$$

$$۰/۱*V_1 = ۰/۰۲۵ * ۱۰۰ \rightarrow V_1 = ۲۵ \text{ cc}$$

۲۵ میلی لیتر از محلول ۰/۱ نرمال را برداشته به حجم ۱۰۰ می رسانیم.

روش کار:

بطری مخصوص (وینکلر) را بدون آنکه هوای زیادی وارد آن شود کج نگه می داریم و آن را با نمونه زهاب پر کرده و اجازه می دهیم که سرریز شود. ۲ میلی لیتر محلول سولفات منگنز و ۲ میلی لیتر محلول واکنشگر یدور قلیایی را به دقت کافی به ته بطری انتقال داده سپس درپوش را محکم کرده تا اضافه محلول بیرون بریزد. پس از چندین با هم زدن، رسوب های منگنز به دست می آید.

پس از چند دقیقه، ۲ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ اضافه کرده و پس از بستن درب بطری کاملاً آن را مخلوط می نماییم. محلول را تکان داده تا همگن شود (هیچ دانه قهوه ای دیده نشود). سپس ۲۰۰ میلی لیتر از آن را به ارلن ۵۰۰ میلی لیتری انتقال داده و توسط محلول سدیم تیوسولفات ۰/۰۲۵ نرمال تا بی رنگ شدن محلول تیتر می کنیم.

اگر مقدار V میلی لیتر سدیم تیوسولفات ۰/۰۲۵ نرمال برای B میلی لیتر از محتویات بطری (با حجم اولیه A میلی لیتر) مصرف شده باشد، مقدار اکسیژن بر حسب mg/L از رابطه (۳-۸) محاسبه می شود:

$$\text{mg/L D.O} = V \times \frac{A}{A-۶} \times \frac{۲۰۰}{B} \qquad (۳-۸)$$

۳-۱-۴ سنجش میزان کدورت آب

مواد کلوئیدی، کدورت نمونه را تشکیل می دهند. کدورت در استاندارد چنین تعریف می شود:

" یک خاصیت فیزیکی نمونه که سبب می شود نور تابیده شده به نمونه متفرق و یا جذب شود ولی عبور نکند."

بنابراین برای اندازه گیری کدورت، نیاز به یک منبع نور و دستگاهی برای اندازه گیری نور متفرق شده می باشد. در ابتدا شخصی به نام جکسون با استفاده از شمع، درجه کدورت را مشخص کرد، از این رو یک واحد کدورت JTU می باشد که معرف واحد کدورت جکسون می باشد. امروزه بیشتر از واحد NTU استفاده می شود، در واقع واحد JTU معرف نور عبور کرده از نمونه است ولی واحد NTU معرف تفرق نور تابیده[۱] شده می باشد [۴۶].

وسایل لازم:

دستگاه اسپکتوفوتومتر و یا کدورت سنج مخصوص – با سلول های مناسب

مواد لازم:

محلول استاندارد کدورت: ساخته شده از سوسپانسیون کائولن یا فرمازین

[۱] Light scattering

روش کار:

ابتدا سلول مربوط به آب شفاف (بدون کدورت) را در دستگاه قرار داده به طوری که خط سلول رو به جلو و قائم بر خط محفظه باشد. دستگاه باید عدد صفر را نشان دهد. در غیر این صورت کلید Zero را فشار می دهیم.

سپس محلول استاندارد را در محفظه قرار داده که باید عدد ۵ را نشان دهد. در غیر این صورت کلید Cal را فشار داده دستگاه را کالیبره می کنیم.

سپس نمونه را در سلول خالی ریخته و در محفظه قرار می دهیم. سلول را باید پر کرده و خشک و بدون هر گونه لکه باشد. کلید Read را فشار داده و عدد را قرائت می کنیم که همان کدورت نمونه است.

۳-۱-۵ اکسیژن مورد نیاز بیوشیمیایی[۱](BOD)

منظور از این شاخص، تعیین آن قسمت از آلاینده های آلی است که باکتری ها قادر به تجزیه آنها هستند، چون تجزیه مواد آلی توسط باکتری ها (به طور طبیعی) به دما و زمان بستگی دارد از این رو مقدار آن را در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد اندازه گیری می کنند. به تجربه ثابت شده که BOD یک نمونه در طی ساعات و حتی روزهای اولیه متفاوت می باشد و امروزه در سطح جهانی مقدار این شاخص در طی پنج روز را به عنوان استاندارد انتخاب کرده و آن را به صورت BOD_5 نشان می دهند. برای اندازه گیری BOD_5 از دستگاهی استفاده می شود که کاهش اکسیژن در نمونه را (که توسط باکتری های هوازی مصرف می شود تا مواد آلی را تجزیه کنند) در طی پنج روز با غلظت مواد آلی قابل تجزیه توسط باکتری مرتبط می سازند [۴۶].

[۱] Biological Oxygen Demand

مواد لازم:

۱- بافر فسفات pH=۷/۲: ۱/۷۱ گرم K_2HPO_4 و ۱/۳۶ گرم KH_2PO_4 را وزن کرده در بالون ژوژه ریخته به حجم ۱۰۰ می رسانیم.

۲- محلول ۰/۲۵ گرم در لیتر کلرید آهن سه ظرفیتی: ۰/۱۲۵ گرم کلرید آهن سه ظرفیتی را وزن نموده به حجم ۵۰۰ می رسانیم.

۳- محلول ۲/۷ درصد کلرید کلسیم: ۲/۷ گرم کلرید کلسیم را وزن کرده به حجم ۱۰۰ می رسانیم.

۴- محلول ۲ درصد سولفات منیزیم: ۲ گرم سولفات منیزیم را وزن کرده به حجم ۱۰۰ می رسانیم.

روش کار:

۲ میلی لیتر محلول بافر pH=۷/۲ و از سه محلول دیگر هر یک ۱ میلی لیتر و از نمونه زهاب ۲۰۰ میلی لیتر برداشته در بطری وینکلر می ریزیم. DO اولیه را با دستگاه اکسی متر می خوانیم. بطری را ۵ روز داخل انکوباتور قرار داده و پس از ۵ روز دوباره DO را قرائت می کنیم. میزان اکسیژن مورد نیاز بیولوژیکی زهاب از فرمول (۳-۹) به دست می آید:

$$mg/L\ \ BOD_5 = (DO_i - DO_f)\ V_T / V_S \qquad (۳-۹)$$

که در آن:

DO_i: DO اولیه

DO_f: DO بعد از ۵ روز

V_T: حجم کل بطری وینکلر

V_s: حجم نمونه زهاب

طرز کار دستگاه اکسی متر:

دکمه Power را فشار می دهیم. دستگاه باید عدد صفر را نشان دهد. در غیر این صورت دکمه Zero را فشار می دهیم. سپس کلید را به سمت O_2 می گذاریم. سر سنسور را رو به بالا نگاه می داریم. دستگاه باید عدد ۲۰/۹ یا ۲۰/۸ را نشان دهد. در غیر این صورت کلید O_2 Cal را فشار می دهیم. سپس محتویات وینکلر را درون یک بشر ریخته سر سنسور را با آب مقطر شسته و سنسور را داخل محلول قرار داده و نهایتاً عدد را یادداشت می نماییم.

۳-۱-۶ تعیین pH زهاب

برای اندازه گیری pH هم می توان از کاغذ های pH سنج استفاده نمود که دقت پایینی دارند و میزان pH را به صورت عدد های طبیعی از ۰ تا ۱۴ نشان می دهند و هم می توان از دستگاه pH متر استفاده کرد که میزان pH را تا دو رقم اعشار نشان می دهد. اگر pH متر مورد استفاده، کالیبره نباشد باید پیش از اندازه گیری، آن را با محلول های بافر pH =۴ و pH =۷ کالیبره نمود. شکل (۳-۱) نمونه ای از دستگاه PH متر مورد استفاده در این تحقیق را نشان می دهد:

شکل (۳-۱) دستگاه pH متر

۳-۱-۷ اندازه گیری فلزات توسط دستگاه جذب اتمی

پس از انجام آزمایشات زهاب، نمونه زهاب را از کاغذ صافی عبور داده تا رسوب آهن سه ظرفیتی آن جدا شود. سپس توسط دستگاه جذب اتمی Varian AA۲۴۰ (شکل ۳-۲) غلظت یون های فلزی موجود در آن مشخص گردید. برای این کار ابتدا محلول های استاندارد فلزی تهیه شد.

شکل (۳-۲) دستگاه جذب اتمی

۳-۱-۷-۱ تهیه محلول های استاندارد مس و منگنز:

از هر فلز مورد نظر، یک نمک انتخاب کرده و از آن محلولی با غلظت ۱۰۰ mg/L طبق رابطه (۳-۱۰) تهیه می گردد که محلول مادر نام دارد:

(۳-۱۰) (عدد اتمی فلز /جرم مولکولی نمک) * ۱۰۰ = میلی گرم نمک مورد نیاز

این مقدار فلز را در بالون ژوژه یک لیتری ریخته و به حجم می رسانیم.

سپس از این محلول مادر، ۴ محلول استاندارد تهیه می شود که باید غلظت آنها در محدوده تعریف شده برای دستگاه جذب اتمی باشند. برای این کار طبق رابطه (۳-۱۱) عمل می گردد:

$$N_1V_1 = N_2V_2 \qquad (۳-۱۱)$$

که در آن:

N_1: غلظت محلول مادر

N_2: غلظت محلول استاندارد مورد نظر

V_1: حجمی که از محلول مادر باید برداریم

V_2: حجم ظرفی که در آن محلول استاندارد را می سازیم

۳-۱-۷-۲ تعیین غلظت فلزات در زهاب:

در این مرحله ابتدا دستگاه را با آب مقطر صفر کرده سپس ۴ محلول استاندارد را به ترتیب از کمترین غلظت به دستگاه تزریق می کنیم و نمودار خطی کالیبراسیون را رسم می نماییم. سپس نمونه زهاب مورد نظر را به دستگاه تزریق کرده و از روی میزان جذب آن، غلظت فلز مورد نظر در نمونه تعیین می گردد.

۳-۲ تهیه بایومس

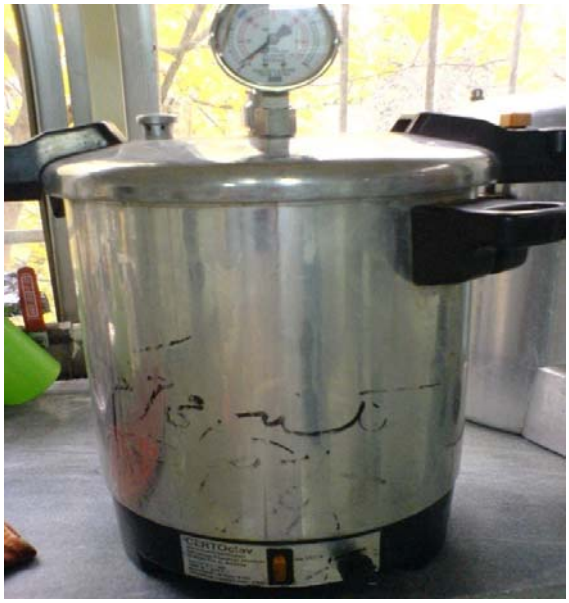
برای تهیه بایومس به منظور استفاده در عملیات جذب فلز سنگین، ابتدا باید محیط کشت مناسب برای رشد قارچ های مورد نظر را فراهم نماییم. سپس قارچ رشد کرده را در محیط مایع تلقیح نموده و از آن توده قارچی تهیه نماییم. سپس توده قارچی تهیه شده را به طریقی که گفته خواهد شد کشته، پودر کرده و برای مصارف بعدی (جذب) ذخیره می نماییم.

۳-۲-۱ ساخت محیط کشت جامد (اسلنت[1]) برای قارچ

برای تهیه محیط کشت جامد برای رشد قارچ، ۱۵۰ گرم سیب زمینی را پوست کنده شسته و خرد کرده و در ارلن یک لیتری ریخته و ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر به آن می افزاییم. ۲۰ میلی لیتر آب مقطر را در یک ارلن کوچک ریخته در هر دو ارلن را با پنبه و فویل بسته و آنها را در دمای ۱۲۵

[1] slant

درجه سانتی گراد یا ۲۰ PSI در داخل اتوکلاو (شکل ۳-۳) قرار می دهیم. سیب زمینی اتوکلاو شده را با استفاده از یک صافی پارچه ای صاف کرده ۴/۵ گرم آگار به عصاره اضافه کرده و pH آن را توسط اسید نیتریک به ۴/۵ می رسانیم مناسب ترین pH رشد باکتری ۴/۵ است محلول حاصل را جهت استریل شدن، اتوکلاو می کنیم.۶ گرم گلوکز را به ارلن کوچک حاوی ۲۰ میلی لیتر آب مقطر استریل در کنار شعله اضافه می کنیم و در اتوکلاو با پیچ باز به مدت ۱۰ دقیقه قرار می دهیم. این روش استریل کردن گلوکز به این دلیل است که پیوندهای کربنی در قند بر اثر حرارت بالا می شکند و ساختار قندی در هم می ریزد. به همین دلیل نمی توان محلول قندی را مثل سایر محیط ها با اتوکلاو کردن استریل نمود. در کنار شعله، محلول گلوکز را به محیط پوتیتو افزوده و محیط را درون لوله های آزمایش استریل شده توزیع کرده و به صورت مورب روی سکو قرار می دهیم تا ببند [۴۷].



شکل (۳-۳) دستگاه اتوکلاو مورد استفاده

سویه مورد نظر(هر یک از قارچ های آسپرژیلوس نایجر یا فنروکیت کریزوزپوریوم) را روی محیط های آماده شده کشت داده به این صورت که از نمونه قارچی اولیه به اندازه یک سر آنس برداشته و در کنار شعله به اسلنت ها می افزاییم. نمونه را برای رشد کردن درون انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵ روز قرار می دهیم (شکل ۳-۴).

شکل (۳-۴) نمونه اسلنت قارچی

۳-۲-۲ ساخت محیط کشت مایع(براث[۱])

روش تهیه محیط کشت مایع همان روش تهیه محیط کشت جامد است با این تفاوت که بـه آن آگـار اضافه نمی شود .

دو ارلن یک لیتری انتخاب کرده در هر یک ۲۵۰ گرم سیب زمینی را در ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر اتوکلاو کرده و صاف می کنیم. این محیط را در ۵ ارلن ۱۰۰۰ CC در هر کدام به میزان ۲۰۰CC می ریزیم. برای بهتر رشد کردن میکروارگانیسم ها و هوادهی بیشتر تنها یک پنجم حجم ارلن را از محیط کشت پر می کنیم. سپس این ارلن ها را دوباره اتوکلاو می کنیم تا محیط کشت درون آنها استریل شود.

۵ عدد لوله آزمایش که هر یک حاوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر استریل می باشند، تهیه کرده و به هر یک در کنار شعله، ۴ گرم گلوکز افزوده و به طریق گفته شده با پیچ باز، اتوکلاو می نماییم. محتوی هر لوله را پس از عمل اتوکلاو به ارلن های حاوی محیط پوتیتو (سیب زمینی) می افزاییم.

[۱] broth

۳-۲-۳ طرز تهیه سوسپانسیون قارچی جهت تلقیح به محیط کشت

مقداری آب مقطر استریل به اسلنت های حاوی قارچ در کنار شعله اضافه می کنیم. برای تعیین میزان تلقیح، کدورت سوسپانسیون را توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV) (شکل۳-۵) می سنجیم. در طول موج ۶۵۰ نانو متر سوسپانسیون حاصل باید جذبی معادل ۰/۵ داشته باشد. در این صورت ۳ CC از سوسپانسیون حاصل به محیط کشت مایع تلقیح می شود.

شکل (۳-۵) دستگاه اسپکتروفتومتر

محیط کشت براث حاوی سوسپانسیون قارچ را در دمای ۳۲±۲ درجه سانتی گراد و دور ۲۰۰ rpm درون شیکر انکوباتور (شکل۳-۶) قرار می دهیم. مطابق شکل (۳-۷) بعد از ۷۲ ساعت قارچ مورد نظر رشد مطلوب را خواهد داشت [۳۹].

شکل (۳-۶) شیکر انکوباتور

شکل (۳-۷) توده قارچی رشد داده شده

۳-۲-۴ صاف کردن توده قارچی

توده های قارچی رشد کرده در محیط براث را از کاغذ صافی (واتمن ۱۲۵ میکرو متـری) عبـور داده تا محیط کشت از آن جدا شود . توده قارچی را با آب مقطر استریل شستشو می دهیم .

۳-۲-۵ کشتن بایومس قارچی

برای کشتن و غیر فعال کردن بایومس حاصل، آن را در cc ۵۰۰ سود ۰/۵ نرمال به مـدت ۱۵ دقیقـه می جوشانیم. این عمل به منظور فعال سازی دیواره سلولی بایومس انجـام مـی شـود کـه بـا حـرارت دادن، سلول متلاشی شده و دیواره سلولی پاره می شود و محتویات درونـی آن خـارج شـده و از بـین می رود و فقط غشاء سلول باقی می ماند. با توجه به اینک گروه های عاملی جـاذب بـر روی دیـواره و غشاء قرار دارند، بنابراین در این شرایط فقط قسمت مفید توده قارچی باقی می ماند. به همین علت از این توده قارچی مدت های مدیدی می تـوان اسـتفاده نمـود بـدون اینکـه در ظرفیـت جداسـازی آن کاهشی رخ دهد. در نتیجه مشاهده می شود که جداسازی به فعالیت بیولوژیکی سلول بسـتگی نـدارد بلکه به گروه های عاملی موجود بر روی غشاء دیواره بستگی دارد [۴۸].

۳-۲-۶ خشک کردن و آماده کردن بایومس

بایومس جوشانده شده در سود را از کاغذ صافی (واتمن ۰/۴۵ µm) عبور داده و با آب مقطر استریل دیونیزه توده را آن قدر شستشو داده تا pH آن طبیعی شود (pH =۷). توده حاصـل را بـه مـدت ۲۴ ساعت در آون (شکل۳-۸) ۶۰ درجه سانتی گراد قرار می دهیم تا کاملاً خشک شود. بایومس خشـک شده را در هاون کوبیده تا کاملاً نرم شود و پودر حاصله را در یخچال در دمای ۴ درجـه سـانتی گـراد برای مصارف بعدی انبار می کنیم (شکل۳-۹).

شکل (۳-۸) آون

شکل (۳-۹) بایومس پودری تهیه شده

۳-۲-۷ بررسی عدم آلودگی

برای اطمینان از اینکه میکرواورگانیسم دیگری غیر از نمونه مورد نظر در محیط رشد نکرده باشد، مقداری از محیط کشت که نمونه در آن رشد کرده است را زیر میکروسکوپ چک می کنیم .

برای این کار از لاکتوفنل یا روش رنگ آمیزی گرم استفاده می شود. در استفاده از لاکتو فنل، مقداری از میکروارگانیسم را روی لام قرار داده یک قطره لاکتوفنل به آن افزوده و لامل را روی آن قرار می دهیم.

۳-۲-۷-۱ رنگ‌آمیزی گرم

رنگ‌آمیزی گرم یکی از مهمترین و متداولترین روش‌های رنگ آمیزی در باکتری شناسی است که اولین بار توسط کریستین گرم ابداع شد. در این رنگ آمیزی باکتری‌ها بر مبنای رنگ باکتری پس از رنگ آمیزی به دو دسته گرم مثبت وگرم منفی تقسیم می‌شوند. رنگ باکتری پس از رنگ آمیزی به توانایی حفظ رنگ اول و به عبارتی به ساختمان دیواره سلولی باکتری بستگی دارد. در رنگ آمیزی گرم باکتری‌های گرم مثبت پس از رنگ آمیزی به رنگ بنفش و باکتری‌های گرم منفی به رنگ قرمز مشاهده می‌شود.

گرچه هر دو گروه یعنی باکتری‌های گرم مثبت و منفی دارای دیواره می‌باشند ولی فرق بین این دو گروه مربوط به خواصی است که در ساختمان دیواره سلولی آنها وجود دارد. اساس ساختمان در دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت یک لایه ضخیمی است از پپتیدوگلیکان، ولی در باکتری‌های گرم منفی ضخامت آن به حداقل می‌رسد.

روش رنگ‌آمیزی گرم

نخست رنگ کریستال ویوله را به مدت ۳۰ تا ۴۵ ثانیه بر روی گسترش باکتری روی لام ریخته درنتیجه همه باکتری‌ها به رنگ بنفش درخواهد درآمد.

پس از شستشو با آب، به مدت ۳۰ تا ۴۵ ثانیه با لوگل می‌پوشانند. لوگل با کریستال ویوله ترکیب شده و ایجاد کمپلکس‌های بزرگی می‌نمایید که باعث تثبیت رنگ کریستال ویوله درداخل دیواره سلولی باکتری می‌شود. پس از این مرحله نیز کماکان همه باکتری ها به رنگ بنفش مشاهده می‌شوند.

مرحله رنگ زدایی مهمترین مرحله رنگ آمیزی است در این مرحله پس از شستشو لام با آب لام به مدت ۱۵ تا۲۰ ثانیه در معرض مواد رنگ زدا مانند الکل استون قرار می‌گیرد سپس با آب مورد

شستشو قرار می‌گیرد. در باکتری های گرم منفی که دارای لایه‌های پپتیدو گلیکان محدود وغشای خارجی غنی از چربی هستند. این حلال باعث حذف این لایه‌ها وغشا می‌گردد و باکتری رنگ مراحل قبل را از دست می‌دهد. ولی در باکتری های گرم مثبت به علت تعداد زیاد لایه‌های پپتیدوگلیکان و عدم وجود لیپید فراوان در غشا رنگ مرحله قبل ازغشا خارج نمی‌شود. در نتیجه پس از این مرحله باکتری های گرم منفی بی رنگ ولی باکتری های گرم مثبت کماکان بنفش باقی خواهند ماند.

در انتها سطح گسترش را با سافرانین یا فوشین (قرمز رنگ) به مدت ۳۰ تا ۴۵ ثانیه می‌پوشانیم سپس با آب شستشو داده و پس از خشک شدن با میکروسکوپ مورد بررسی قرار می گیرد. در این مرحله باکتری‌های بی رنگ به رنگ قرمز درمی‌آیند و باکتری‌های بنفش بدون تغییر رنگ باقی می‌مانند.

۳-۳ تعیین پارامترهای بهینه جذب در سیستم ناپیوسته

برای تعیین شرایط بهینه جذب برای افزایش حداکثری راندمان عملیات جذب، اثر برخی پارامترهای موثر بر جذب فلز توسط میکروارگانیسم، مانند pH، زمان تماس، غلظت بایومس، دما و دور شیکر را بررسی نمودیم [۴۹].

۳-۳-۱ بررسی اثر تغییرات pH بر روی جذب

به ارلن های حاوی cc ۱۰۰ از نمونه زهاب که pH آنها از ۳ تا ۶ متغیر است مقدار ۰/۱ گرم بایومس خشک شده پودری اضافه کرده و روی شیکر (شکل۳-۱۰) با دور rpm۱۵۰ به مدت یک ساعت و در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد قرار می دهیم . برای تغییرات pH از اسید سولفوریک و هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال استفاده شده است.

شکل (۳-۱۰) شیکر

۳-۳-۲ بررسی اثر زمان تماس

مقدار ۰/۱ گرم بایومس خشک را به ارلن های حاوی ۱۰۰ cc زهاب که pH آن روی pH بهینه جذب آن فلز تنظیم شده، اضافه کرده و روی شیکر با دور ۱۵۰rpm و دمای ۳۰ درجه سانتی گراد قرار می گیرد. محدوده تغییرات زمان برای هر فلز از ۱۰ دقیقه تا ۲ ساعت در نظر گرفته شد.

۳-۳-۳ بررسی اثر تغییرات دما و دور شیکر

مقدار ۰/۱ گرم بایومس خشک را به ارلن های حاوی ۱۰۰ cc زهاب که pH آن روی pH بهینه جذب آن فلز تنظیم شده اضافه کرده و روی شیکر در محدوده دمایی متفاوت از۲۰ تا ۴۰ درجه سانتی گراد و سرعت اختلاط از ۵۰ تا ۲۰۰ دور بر دقیقه قرار داده ایم .

۳-۳-۴ بررسی اثر تغییر غلظت جاذب

غلظت بایومس را از ۱ تا ۴ گرم در لیتر تغییر داده و ارلن های مورد نظر برای انجام فرآیند جذب در شرایط بهینه جذبی بر روی شیکر قرار می گیرند .

۳-۳-۵ تعیین میزان جذب فلز توسط بایومس قارچی

نمونه زهاب حاوی بایومس پودری بعد از فرآیند جذب مطابق شکل (۳-۱۱) از کاغذ صافی عبور داده شدند و محلول زیری برای بررسی میزان فلز جذب شده به دستگاه جذب اتمی تزریق شد.

شکل (۳-۱۱) جداکردن بایومس از زهاب برای ارسال به دستگاه جذب اتمی

۳-۳-۶ عملیات دفع و بازیافت مجدد میکرواورگانیسم های استفاده شده

۰/۱ گرم بایومس قارچی که در جذب سطحی فلزات استفاده شده است را با اسید نیتریک (HNO_3) ۰/۵ نرمال ترکیب کرده و در دمای ۲۲ درجه سانتی گراد به مدت ۶ ساعت بر روی شیکر با دور ۱۰۰ rpm قرار می دهیم. سپس بایومس را با آب مقطر دیونیزه شده شستشو می دهیم و در آون خشک می کنیم. با اعمال این روش بایومس مجدداً برای جذب فلزات آماده می شود. این عمل یکی از مزیت های جذب بیولوژیکی می باشد [۵۰].

۳-۳-۷ بررسی ایزوترم های جذب سطحی

ایزوترم های جذب برای یک آلاینده معمولاً رابطه بین غلظت جذب شده روی سطوح جامد، q، و غلظت آلاینده در فاز محلول، C_e، را در حالت تعادل و درجه حرارت ثابت بیان می دارند. ایزوترم های جذب در آزمایشگاه از آزمایش های سیستم ناپیوسته حاصل می شوند. وقتی آب حاوی آلاینده با غلظت C_i با یک جاذب جامد مخلوط می شود، در حالت تعادل، جرم آلاینده بین محلول و ذرات جامد جاذب توزیع می شود. این فرآیند توسط رابطه (۳-۱۲) بیان می گردد [۱۹]:

$$q = \frac{(C_i - C_e)}{M} V \qquad (۱۲-۳)$$

که در آن:

q : جرم فلز جذب شده بر وزن سلول خشک شده قارچی (mg/g)

C_e : غلظت فلز باقیمانده در محلول در حالت تعادل بعد از جذب (ppm)

C_i : غلظت اولیه فلز (آلاینده) قبل از جذب (ppm)

V : حجم محلول (L)

M : جرم بایومس (جامد) (gr)

۳-۳-۷-۱ محاسبه درصد جذب

درصد جذب از رابطه (۳-۱۳) محاسبه می گردد:

$$y = \frac{(Ci - Ce)}{Ci} \times 100 \qquad (۱۳-۳)$$

اگر آزمایش در همان دمای ثابت با غلظت های اولیه متفاوت تکرار گردد، تعدادی نقطه حاصل می شود که می توان ایزوترم جذب را رسم نمود (نمودار q نسبت به C_e).

ایزوترم های جذب دارای اشکال مختلف خطی، مقعر، محدب و یا ترکیبی از اشکال گفته شده می باشند. می توان ایزوترم های به دست آمده در آزمایشگاه را به صورت فرمول های ریاضی مدل سازی کرد. معادلات لانگمویر[۱] و فرندلیچ[۲] متداول ترین مدل های ایزوترم غیر خطی می باشند. ایزوترم های لانگمویر و فرندلیچ به قرار زیر هستند:

[۱] Langmuire
[۲] Freundlich

۳-۳-۷-۲ مدل لانگمویر

مدل لانگمویر به صورت رابطه (۳-۱۴) بیان می شود:

$$q = \frac{q_{\max} bC_e}{1 + bC_e} \qquad (۱۴-۳)$$

شکل خطی مدل لانگمویر به صورت رابطه (۳-۱۵) است:

$$\frac{C_e}{q} = \frac{1}{bq_{\max}} + \frac{C_e}{q_{\max}} \qquad (۱۵-۳)$$

که در آن:

$\frac{1}{bq_{\max}}$: عرض از مبدا خط

$\frac{1}{q_{\max}}$: شیب خط

b : ثابت لانگمویر

۳-۳-۷-۳ مدل فرندلیچ

رابطه (۳-۱۶) مدل فرندلیچ و رابطه (۳-۱۷) شکل خطی مدل فرندلیچ را بیان می کنند:

$$q = K_f C_e^{\frac{1}{n}} \qquad (۱۶-۳)$$

$$Lnq = LnK_f + \frac{1}{n} LnC_e \qquad (۱۷-۳)$$

که در آن:

K_f: ضریبی است که ظرفیت جذب را مشخص می سازد

n: نمای فرندلیچ

۳-۳-۸ بررسی سینتیک جذب

مطالعه سینتیک جذب یک پارامتر بسیار مهم در طراحی سیستم های مناسب برای تصفیه که بر اساس جذب کار می کنند، می باشد. جذب آلاینده ها از فاز مایع و انتقال آن به فاز جامد می تواند به خوبی توسط یک واکنش برگشت پذیر و تحت شرایط تعادلی بین دو فاز بیان گردد. به منظور بررسی اثرات سینتیک، معادله شبه مرتبه اول لاگرگرین (رابطه (۳-۱۸)) می تواند جهت محاسبه ثابت های سرعت به کار گرفته شود.

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{K_{1,ad}}{2.303}(t) \qquad (۳-۱۸)$$

که در آن:

q_e: مقدار آلاینده جذب شده در حالت تعادل (mg/g)

q_t: مقدار آلاینده جذب شده در زمان t (mg/g)

$K_{1,ad}$: ثابت سرعت شبه مرتبه اول (min^{-1})

t: زمان (min)

در بسیاری از موارد، معادله شبه مرتبه اول نمی تواند فرآیند جذب را تشریح نماید. در این موارد یک معادله شبه مرتبه دوم به صورت زیر می تواند به کار گرفته شود (معادله ۳-۱۹) [۱۹].

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{K_{2,ad} q_e^2} + \frac{1}{q_e}(t) \qquad (۳-۱۹)$$

که در آن:

$K_{2,ad}$: ثابت سرعت شبه مرتبه دوم ($g\ mg^{-1} min^{-1}$)

۳-۴ بررسی عملیات جذب در سیستم پیوسته

برای انجام عملیات جذب در سیستم پیوسته، ابتدا بایومس قارچی پودر شده را روی بستر آلژینات تثبیت کرده سپس آن را داخل ستون با ویژگی های مشخص ریخته و زهاب حاوی فلز سنگین را با سرعت مشخص از آن عبور می دهیم. محلول های خروجی از ستون را تعیین غلظت کرده و میزان جذب فلز توسط بایومس را تعیین می نماییم.

۳-۴-۱ روش تثبیت سلول های قارچی بر روی بستر آلژینات

۱- ۶ گرم آلژینات سدیم را در ۳۰۰cc آب ریخته و روی هیتر شیکر دار در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و دور ۵ قرار می دهیم تا پودر مذکور حل شود .

۲- بعد از خنک شدن محلول آلژینات ۶ گرم بایومس پودری خشک شده به آن اضافه می شود .

۳- مخلوط آلژینات و پودر قارچی را به صورت قطره قطره با سمپلر و یا سرنگ بدون سوزن به محلول ۰/۲ مولار کلرید کلسیم دو آبه در حالیکه این محلول بر روی همزن است اضافه کردیم . با ورود مخلوط آلژینات و پودر قارچی به محلول فوق گوییچه های ژله ای (مهره های ژلی مانند) به ابعاد ۲ میلی متر به دست آمد (ابعاد استاندارد ۰/۵ تا ۲ میلی متراست). در واقع کلرید کلسیم باعث پلیمره شدن آلژینات می شود و بایومس پودری درون دانه های پلیمری به دام می افتند (شکل ۳-۱۲).

۴- پس از تبدیل همه مخلوط آلیژینات و بایومس به گویچه های ۲ میلی متری، به طور کاملاً آهسته، کلرید کلسیم ۰/۲ مولار قبلی را خارج کرده و با محلول کلرید کلسیم ۰/۲ مولار تازه جایگزین می کنیم. این کار را برای سفت و محکم شدن گویچه ها انجام می دهیم و سپس آنها را در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرار می دهیم.

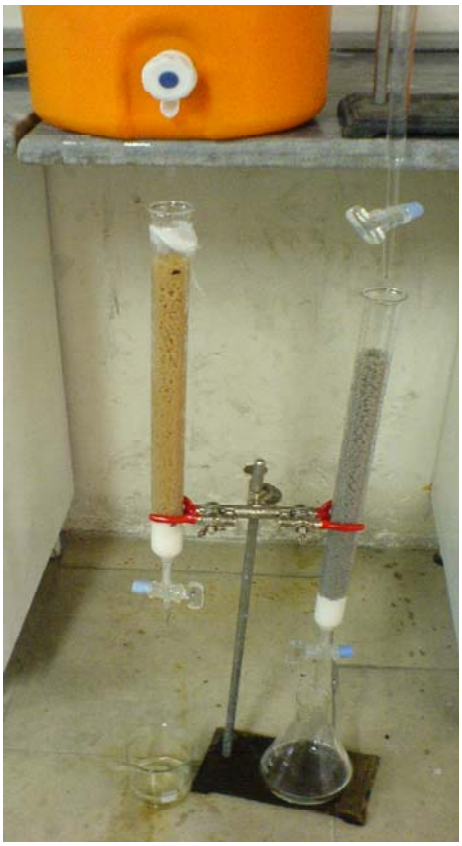
۵- پس از ۲۴ ساعت گویچه های داخل محلول کلرید کلسیم را از یخچال خارج کرده و آنها را با آب مقطر استریل برای حذف یون های کلسیم اضافی می شوییم.

۶- گویچه ها را روی کاغذ سفید پهن کرده و یا سشوار خشک می نماییم. در غیر این صورت گویچه ها در داخل ستون به خوبی قرار نگرفته و فضای خالی بین آنها به وجود می آید [۵۲ و ۵۱].

شکل (۳-۱۲) نحوه آماده سازی گویجه های آلژینات-بایومس

۳-۴-۲ آماده سازی ستون جهت انجام عملیات جذب

ستونی شیشه ای به قطر ۲/۵ cm و طول ۵۰ cm طراحی شد و انتهای آن، شیری تعبیه شد. ارتفاع ۳۰ سانتی متر از ستون را با گویچه های آلژیناتی حاوی پودرهای بایومس قارچی پر می نماییم و شیر ستون را باز می گذاریم. از بالای ستون زهاب حاوی یون های فلزی با سرعت ۶ mL/min وارد ستون شد و هر ۱۵ دقیقه محلول های خروجی از ستون جمع آوری شد و برای اندازه گیری میزان فلز جذب شده توسط دستگاه جذب اتمی آماده گشت . pH زهاب ورودی روی pH بهینه جذب فلزات تنظیم می شود [۵۴ و ۵۳] (شکل ۳-۱۳).



شکل (۳-۱۳) نمایی از ستون در عملیات پیوسته

۳-۴-۳ تهیه شاهد در سیستم جذب پیوسته

برای بررسی اثر آلیژینات بر روی فرآیند جذب، ستون را از آلژینات بدون بایومس پر کرده و زهاب را از آن عبور می دهیم و محلول خارج شده را برای تعیین غلظت فلز به دستگاه جذب اتمی تزریق می کنیم .

۳-۴-۴ عملیات دفع فلز و بازیافت بایومس

برای بازیافت بایومس همراه آلژینات از اسید نیتریک ۰/۵ نرمال استفاده نمودیم. بدین صورت که محلول اسید نیتریک ۰/۵ نرمال را با سرعت ۱ سانتی متر بر دقیقه بر روی بستر موجود در ستون ریخته تا جایی که دیگر غلظت فلز خارج شده از ستون صفر شود. برای تعیین میزان فلز بازیافت شده هر ۵ دقیقه یک بار محلول خارج شده از ستون توسط دستگاه جذب اتمی تعیین غلظت شد .

گویچه های بازیافت شده را با آب مقطر استریل شسته و آن را درون کلرید کلسیم نگهداری می کنیم [۵۵].

روش دیگری که برای شناسایی نقطه پایانی دفع می توان بجای جذب اتمی از آن استفاده نمود استفاده از معرف های رنگ ساز فلزی است. بدین صورت که می توان معرف های هر فلز را تهیه کرد و هر ۵ دقیقه به مقداری از محلول خارج شده از ستون معرف فلز مورد نظر را اضافه کرد و با تغییر رنگ نقطه پایانی جذب را مشخص نمود.

۳-۴-۵ مدل سازی داده های ستون (عملیات پیوسته)

مدل های ریاضی برای جریان از میان ستون های با بستر ثابت اساساً از تحقیقات انجام شده روی جذب کربن فعال و کاربردهای تبادل یونی یا کروماتوگرافیک (رنگ نگاری) منشاء دارد. مدل های زیادی روی برای ستون های جذب بیولوژیکی با بستر ثابت آزمایش شده که عبارتند از: مدل Bohart–Adams (۱۹۲۰)، مدل Thomas (۱۹۴۴)، مدل Yoon-Nelson (۱۹۸۴)، مدل Yan (۱۹۹۹)، مدل Clark (۱۹۸۷) [۵۶].

۳-۴-۵-۱ مدل Yoon-Nelson

در این مدل، نمودار تجربی $\ln(C_e/(C_0-C_e))$ را بر اساس زمان های نمونه برداری (t) رسم می نماییم. شیب نمودار رسم شده برابر k_{YN} و عرض از مبدأ نمودار، برابر با $-\tau k_{YN}$ می باشد. رابطه (۳-۲۰) مدل Yoon-Nelson را بیان می کند:

$$\frac{C_e}{C_0} = \frac{\exp(k_{YN}t - \tau k_{YN})}{1+\exp(k_{YN}t - \tau k_{YN})} \qquad (۳-۲۰)$$

که در آن:

k_{YN}: ثابت سرعت مدل بر حسب L/min

τ: زمانی که غلظت خروجی برابر نصف غلظت ورودی می شود.

فصل چهارم

محاسبه و استخراج نتایج

۴-۱ نتایج آزمایشات آنالیز زهاب

در جدول (۴-۱) میانگین نتایج آزمایشات مختلف انجام گرفته بر روی نمونه های زهاب که در چندین نوبت به آزمایشگاه انتقال داده شد، آمده است. نمونه زهاب همان طور که در فصل قبل گفته شد، ابتدا برای تعیین پارامترهایی نظیر سختی، قلیائیت، BOD، کدورت، pH و غیره مورد آزمایش قرار گرفت.

جدول (۴-۱) نتایج آزمایشات زهاب

سختی کل بر حسب کربنات کلسیم	خیلی بالا
مقدار کلسیم	mg/L ۱۶۶/۷
قلیائیت نسبت به فنل فتالئین	۰
قلیائیت کل	mg/L $CaCo_3$ ۲۰
میزان یون هیدروکسید	۰
میزان یون بی کربنات	۰
مقدار اکسیژن (D.O)	mg/L ۱/۵۴
اکسیژن مورد نیاز بیوشیمیایی	mg/L ۳/۷۵
کدورت	NTU ۱۶۷/۹
pH	۵/۴

سپس به منظور جداسازی رسوب آهن سه ظرفیتی، زهاب را از کاغذ صافی عبور داده و برای تعیین میزان یون های فلزی موجود، به دستگاه جذب اتمی تزریق نمودیم.

جدول (۴-۲) میزان یون های فلزی موجود در زهاب

یون فلزی	Fe^{2+}	Ni	Pb	Ag	Al	Mo	Cu	Mn
غلظت (ppm)	۰/۰۹۷	۰/۰۰۳	۰/٦٥	۰/۰٥۷	۰/۲٤	۰/۲۹	۸/۲٦٥	۱۰/٤۰۱

غلظت های آمده در جدول (۴-۲) مربوط به یون فلزی مس و منگنز، میانگینی از مقادیر به دست آمده طی ۵ بار اندازه گیری نمونه زهاب های گرفته شده از معدن مس سرچشمه می باشد. همان طور که مشهود است، غلظت یون های مس و منگنز در زهاب معدن مس سرچشمه، بیشتر از سایر

یون های فلزی اندازه گیری شده بود. به همین سبب در ادامه کار، روی جذب بیولوژیکی این دو یون فلزی توسط دو گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم، پرداختیم.

۴-۲ نتایج جذب در سیستم ناپیوسته

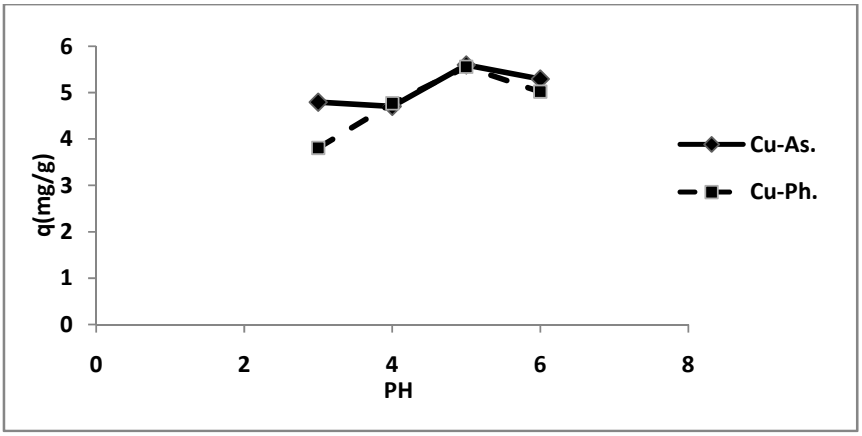
در این مرحله ابتدا اثر پارامترهای مختلف موثر بر فرآیند جذب بررسی و بهینه سازی شد. سپس ایزوترم های جذب، جهت مدل سازی فرآیند در سیستم ناپیوسته و تعیین پارامترهای جذب، رسم گردید.

۴-۲-۱ اثر تغییرات pH

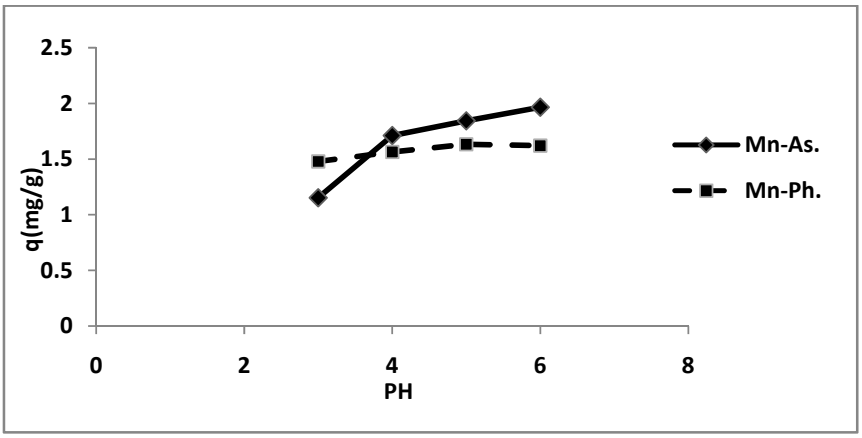
تغییرات pH روی فعالیت شیمیایی یون های فلزی موجود در محلول و همچنین فعالیت گروه های پایه در سطح دیواره سلولی بایومس و رقابت یون های فلزی با یکدیگر بسیار موثر است. به منظور بررسی اثر تغییرات pH بر تغییر میزان جذب و تعیین pH بهینه جذب هر یک از دو فلز مس و منگنز توسط دو گونه قارچی آسپرژیلوس و فنروکیت، میزان pH زهاب را در محدوده ۳ تا ۶ تغییر دادیم. در pH های بزرگتر از ۶، کاتیون های فلزی مس و منگنز به شکل هیدروکسید رسوب کرده و عدم قرائت دستگاه جذب اتمی، مربوط به فرآیند رسوب گذاری شیمیایی است نه جذب بیولوژیکی. ایجاد شرایطی با pH های کمتر از ۳ نیز اقتصادی به نظر نمی رسد زیرا مشکلاتی نظیر خوردگی تجهیزات را به همراه دارد.

همان گونه که در نمودارهای اشکال (۴-۱) و (۴-۲) مشهود است به طور کلی با افزایش pH یک روند افزایشی جذب فلزات توسط گونه های قارچی دیده می شود. افزایش جذب با افزایش pH به دلیل در دسترس بودن گروه های باردار منفی (فسفات و کربوکسیلات) در سطح دیواره سلولی جاذب قارچی است. ماکزیمم میزان جذب برای هر دو یون فلزی توسط هر دو گونه قارچی در رنج pH ۵ تا ۶ اتفاق افتاده است.

میزان جذب مس توسط هر دو گونه قارچی بیشتر از منگنز بوده و این نشانه کارایی بیشتر جذب بیولوژیکی برای جذب یون فلزی مس می باشد. همچنین، گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر (.As) در مقایسه با گونه قارچی فنروکیت (.Ph) توانایی جذب بالاتری از خود نشان داده است.



شکل (۴-۱) اثر تغییرات pH بر روی جذب مس توسط آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم



شکل (۴-۲) اثر تغییرات pH بر روی جذب منگنز توسط آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم

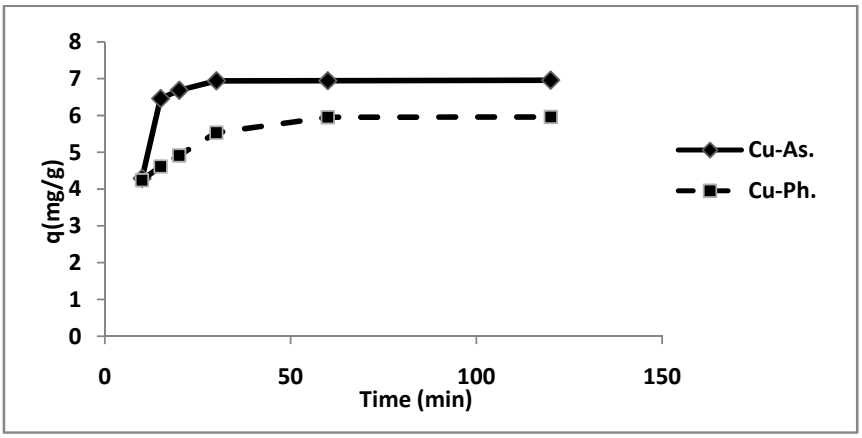
۴-۲-۲ اثر زمان تماس

همان طور که در نمودارهای اشکال (۴-۳) و (۴-۴) دیده می شود، فرآیند جذب فلزات توسط بایومس قارچی از نظر سرعت جذب در دو مرحله انجام می شود.

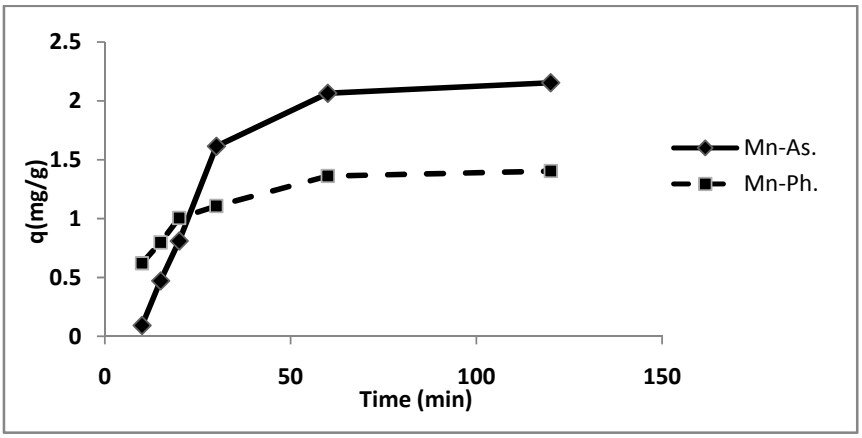
در جذب مس توسط هر دو گونه قارچی، مرحله اول جذب که از سرعت بالایی برخوردار است ۱۵ دقیقه به طول می انجامد. در این بازه زمانی، ۷۹ درصد جذب مس توسط گونه قارچی .As و ۵۶ درصد جذب توسط گونه قارچی .Ph داریم که کل میزان جذب در شرایط غیر بهینه بررسی شده پس از ۱۲۰ دقیقه فرآیند جذب، برای گونه قارچی .As، ۸۵ درصد و برای گونه قارچی .Ph، ۷۲/۵ درصد می باشد. زمان بهینه جذب از نظر صرفه جویی در زمان، برای جذب یون فلزی مس، ۳۰ دقیقه تعیین می شود. در این زمان، ۸۴/۵ درصد مس توسط .As و ۶۷ درصد مس توسط .Ph در شرایط غیر بهینه بررسی شده، جذب می گردد.

جذب منگنز توسط .As نیز دارای دو مرحله است ولی همان طور که در نمودار دیده می شود، جذب منگنز توسط .Ph هموارتر است و ظاهراً مرحله پرسرعت ندارد.

بر طبق نمودار به دست آمده، زمان بهینه برای جذب منگنز ۱ ساعت است که در این مدت ۹۶ درصد کل میزان جذب در مدت ۲ ساعت توسط .As و ۹۷ درصد کل میزان جذب در مدت ۲ ساعت توسط .Ph حاصل می شود.



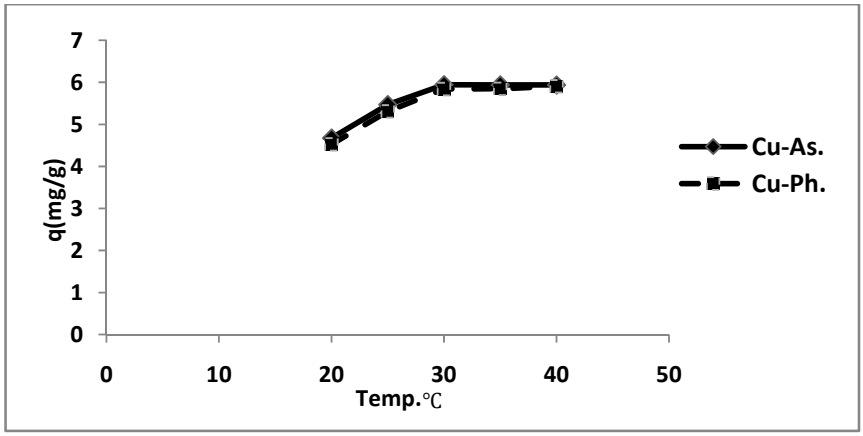
شکل (۴-۳) اثر زمان تماس بر روی جذب بیولوژیکی مس توسط آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم



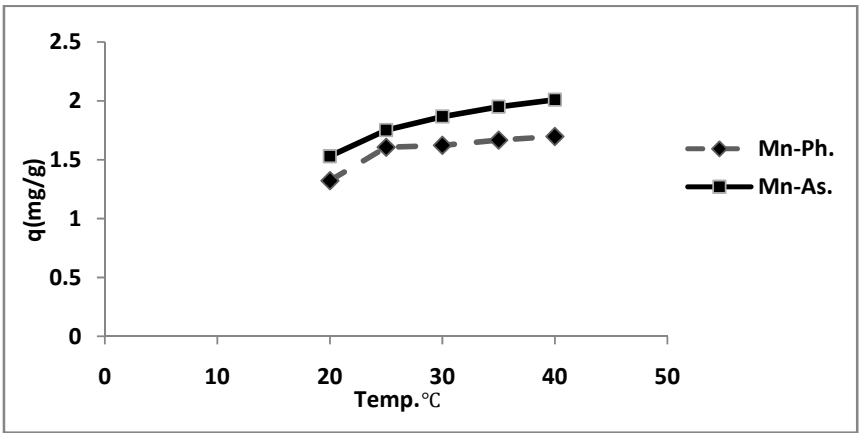
شکل (۴-۴) اثر زمان تماس بر روی جذب بیولوژیکی منگنز توسط آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم

۴-۲-۳ اثر تغییرات دما در جذب

نتایج به دست آمده از آزمایشات نشان می دهد که با افزایش دما در محدوده دمایی ۲۰ تا ۴۰ درجه سانتی گراد، میزان جذب هر دو یون فلزی مس و منگنز توسط هر دو گونه قارچی .As و .Ph افزایش می یابد. این پدیده به این سبب رخ می دهد که با افزایش دما تعداد برخوردهای بین ذرات و سطح جاذب زیاد شده و میزان جذب افزایش می یابد (شکل ۴-۵ و ۴-۶).



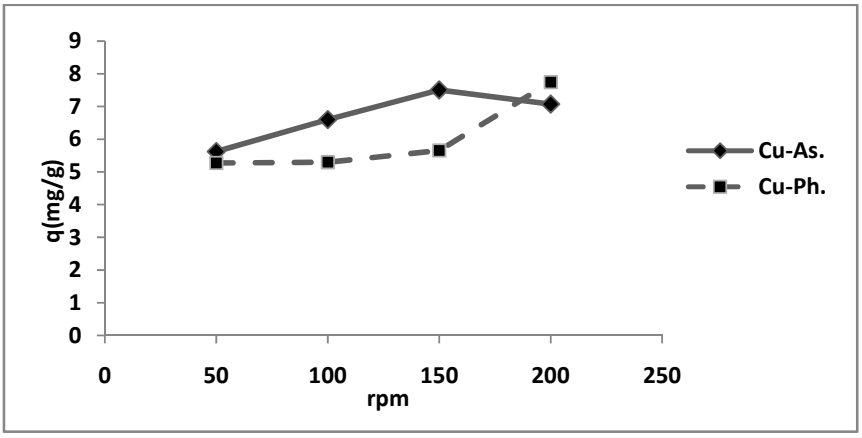
شکل (۴-۵) اثر تغییرات دما بر میزان جذب مس توسط دو گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم



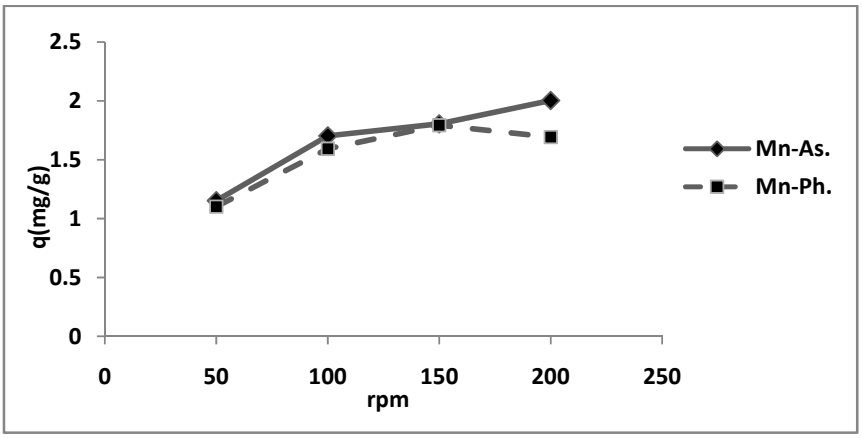
شکل (۴-۶) اثر تغییرات دما بر میزان جذب منگنز توسط دو گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم

۴-۲-۴ اثر تغییرات دور شیکر(سرعت اختلاط)

تغییرات میزان جذب بیولوژیکی نسبت به تغییر سرعت اختلاط، روند یکسانی را در ۴ مورد بررسی شده نشان نمی دهد. جذب Cu توسط .Ph و جذب Mn توسط .As با افزایش سرعت اختلاط افزایش یافته در حالی که ماکزیمم میزان جذب Cu توسط .As و Mn توسط .Ph در دور rpm۱۵۰ اتفاق افتاده است (شکلهای ۴-۷ و ۴-۸).



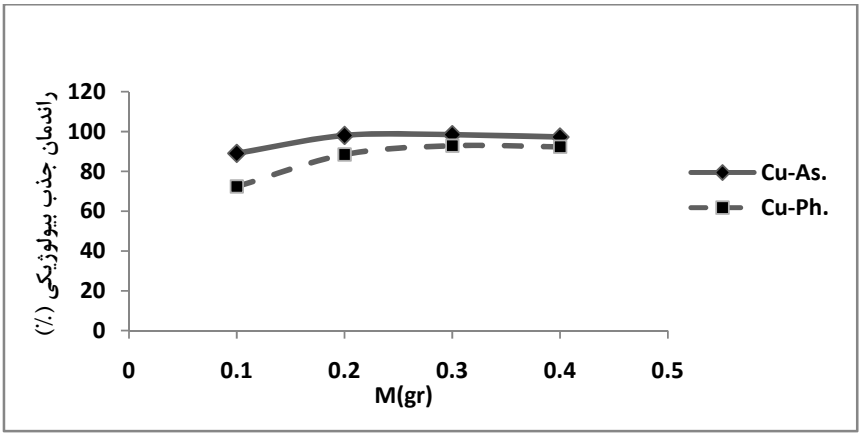
شکل (۴-۷) اثر تغییرات دور شیکر بر میزان جذب مس توسط دو گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم



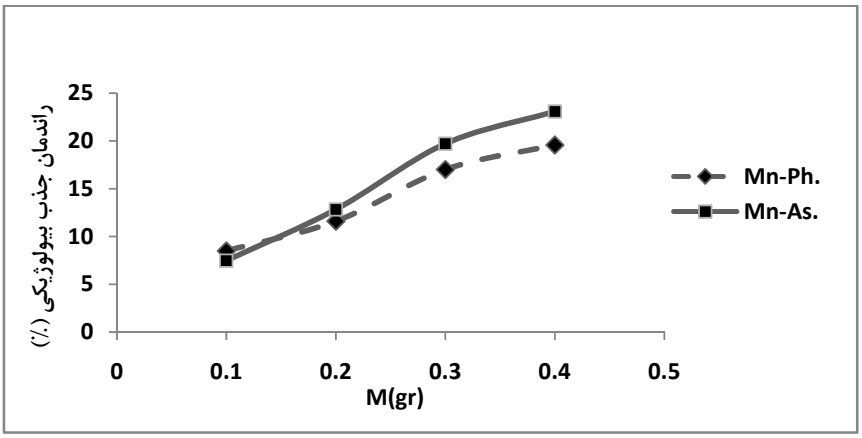
شکل (۴-۸) اثر تغییرات دور شیکر بر میزان جذب منگنز توسط دو گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم

۴-۲-۵ اثر تغییرات غلظت بایومس

آزمایشات انجام شده نشان می دهد که با افزایش غلظت جاذب، میزان جذب منگنز توسط هر دو گونه قارچی افزایش می یابد ولی این امر در مورد یون فلزی مس صادق نیست و همان طور که در نمودارهای شکل (۴-۹) دیده می شود، افزایش غلظت بایومس از ۳ گرم در لیتر باعث افزایش آنچنانی در میزان جذب نشده و جذب مس تقریباً ثابت مانده است. نمودارهای شکل های (۴-۹) و (۴-۱۰) اثرات تغییرات غلظت بایومس را در راندمان جذب بیولوژیکی به ترتیب برای عناصر مس و منگنز نشان می دهند:



شکل (۴-۹) اثر تغییرات بایومس (جاذب) در جذب سطحی مس توسط دو گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم



شکل (۴-۱۰) اثر تغییرات بایومس (جاذب) در جذب سطحی منگنز توسط دو گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم

۴-۲-۶ نتایج عملیات دفع و بازیافت

به کارگیری مجدد بایومس استفاده شده، یکی از مزیت های استفاده از میکروارگانیسم به منظور جذب فلزات سنگین از محلول های آبی می باشد. با ترکیب کردن بایومس حاوی فلز مس و منگنز با اسید نیتریک می توان فلزات جذب شده را از بایومس خارج کرد و بایومس را در عملیات جذب مجدداً استفاده نمود. این عمل بر روی گونه های قارچی .As و .Ph که در عملیات جذب یون های فلزی مس و منگنز استفاده شده بودند، انجام پذیرفت و سپس مجدداً از آنها برای جذب این گونه های فلزی استفاده گردید و مشاهده کردیم که عملیات جذب به خوبی بار اول مجدداً تکرار شد. راندمان این عمل بالا و حدود ٪ ۹۵ است. زمان این جداسازی ۶ ساعت می باشد.

۴-۲-۷ ایزوترم های جذب سطحی

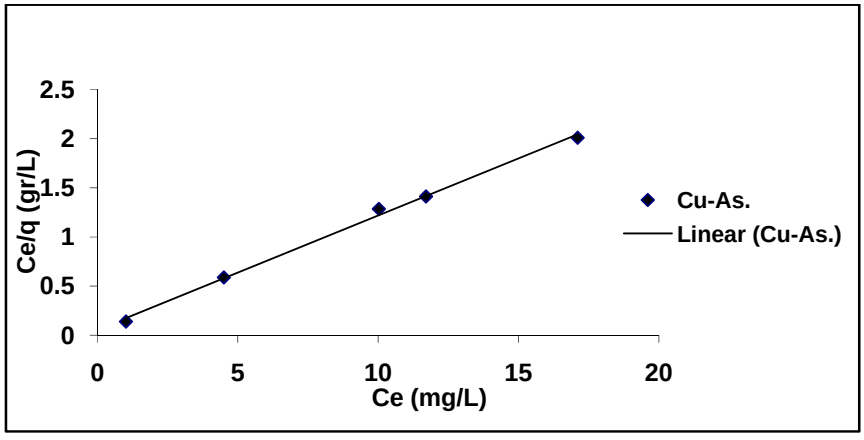
برای بررسی نتایج آزمایشات جذبی در سیستم ناپیوسته از ایزوترم های جذبی فروند لیچ و لانگمویر استفاده شده است و میزان تبعیت داده های به دست آمده از آزمایشات با مدل هایلانگمویر و فرندلیچ بررسی شد. نتایج نشان می دهد که در تمام موارد، پدیده جذب تابعیت بیشتری از مدل جذبی

لانگمویر از خود نشان داده است. شکل های (۴-۱۱) تا (۴-۱۸) این مطلب را به خوبی نشان می دهند.

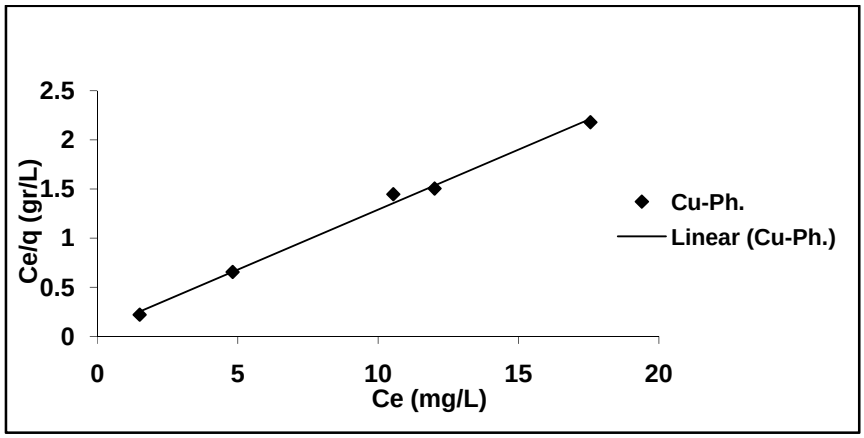
برای به دست آوردن ثوابت مدل های لانگمویر و فرندلیچ و بررسی میزان تبعیت داده های آزمایشگاهی، نمودارهای C_e/q نسبت به C_e برای مدل جذبی لانگمویر و نمودار $Ln(C_e)$ نسبت به $Ln(q)$ برای مدل جذبی فرندلیچ با در نظر گرفتن جذب هر فلز توسط هر گونه قارچی به طور جداگانه رسم گردید.

۴-۲-۷-۱ مدل جذبی لانگمویر

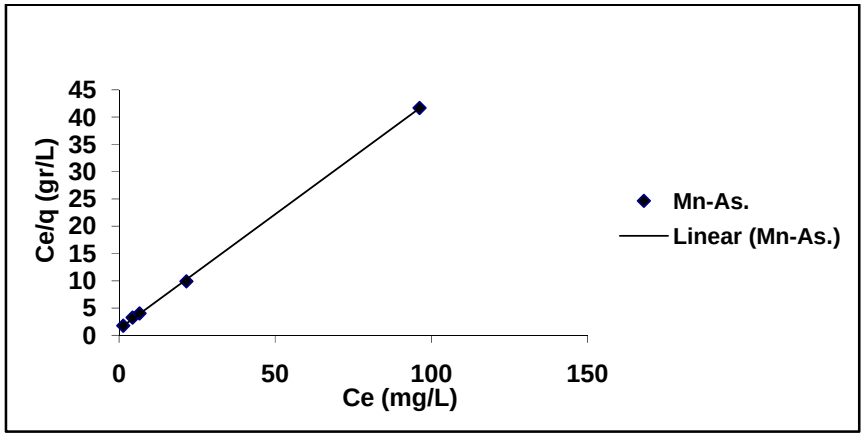
در شکل های (۴-۱۱) تا (۴-۱۴) نتایج ایزوترم های لانگمویر و فرندلیچ برای جذب بیولوژیکی مس توسط گونه های قارچی .As و .Ph نشان داده شده اند. همچنین در جدول (۴-۳) ثابت های مدل لانگمویر به همراه ضرایب رگرسیون خطی برای جذب بیولوژیکی مس و منگنز توسط گونه های قارچی مورد استفاده، ارائه شده است.



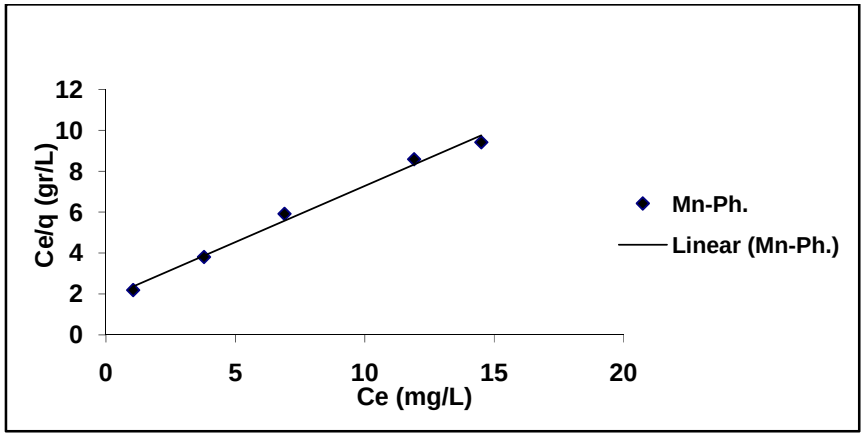
شکل (۴-۱۱) ایزوترم لانگمویر برای جذب فلز مس توسط .As



شکل (۴-۱۲) ایزوترم لانگمویر برای جذب فلز مس توسط Ph.



شکل (۴-۱۳) ایزوترم لانگمویر برای جذب فلز منگنز توسط As.



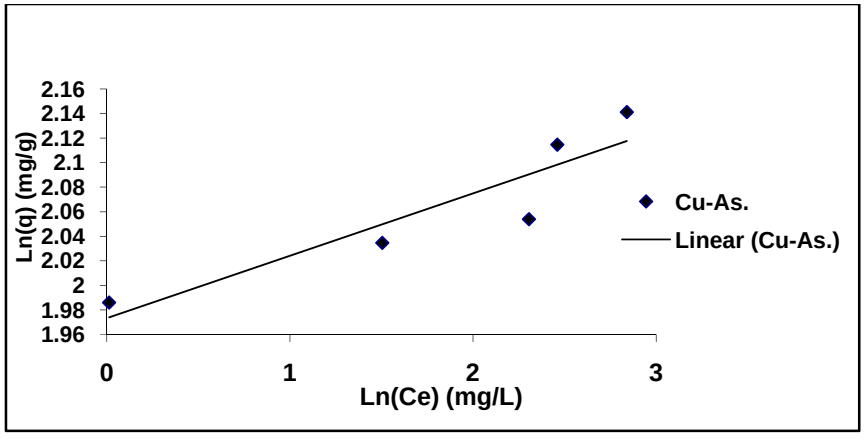
شکل (۴-۱۴) ایزوترم لانگمویر برای جذب فلز منگنز توسط Ph.

جدول (۴-۳) ثوابت و رگرسیون های خطی مدل جذبی لانگمویر برای جذب یون های فلزی مس و منگنز توسط دو گونه قارچی .As و .Ph

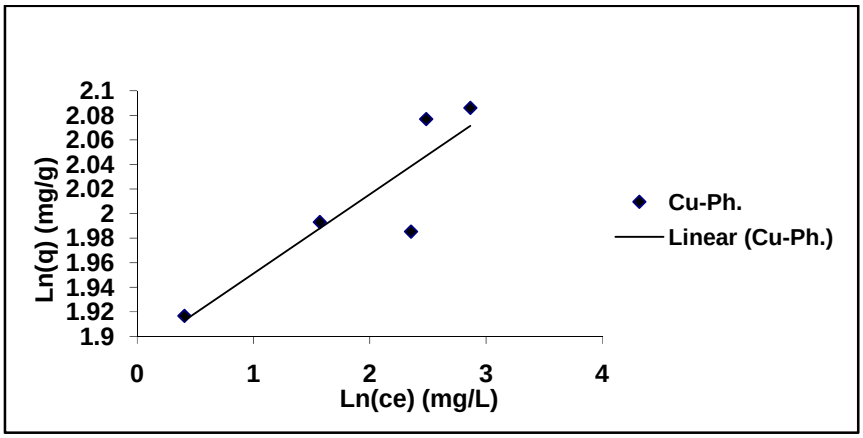
فلز	گونه جاذب	q_{max}	b	R^2
Cu	As.	۸/۵۹۸	۲/۱۰۳	۰/۹۹۶۹
Cu	Ph.	۸/۱۸۳	۱/۸۰۸	۰/۹۹۵۲
Mn	As.	۲/۳۸۱	۰/۳۴۷	۰/۹۹۹۸
Mn	Ph.	۱/۸۲۳	۰/۳۰۵	۰/۹۹۱۲

۴-۲-۷-۲ مدل جذبی فرندلیچ:

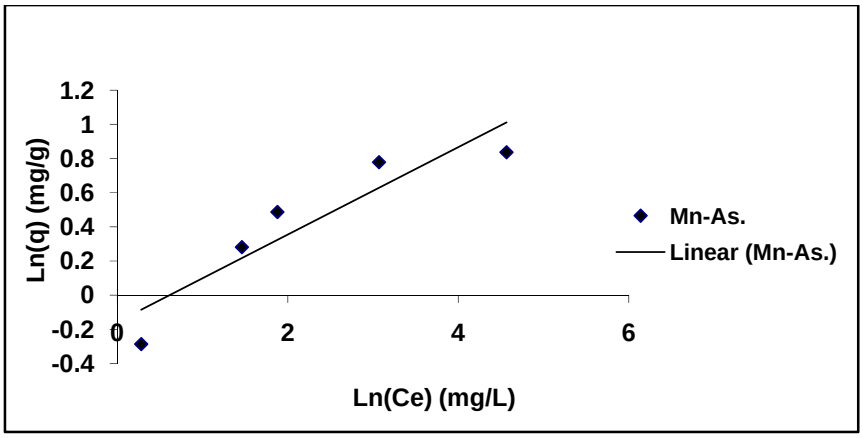
به طور مشابه با آنچه که در بخش ۴-۲-۷-۱ در خصوص ایزوترم لانگمویر گفته شد، نتایج مربوط به ایزوترم و ثابت های آنها برای عملیات جذب بیولوژیکی انجام شده بر روی دو یون فلزی توسط هر دو گونه قارچی به ترتیب در شکل های (۴-۱۵) تا (۴-۱۸) و در جدول (۴-۴) نشان داده شده اند. بررسی ها نشان می دهند که نتایج، از تطابق کمتری با مدل جذبی فرندلیچ برخوردارند.



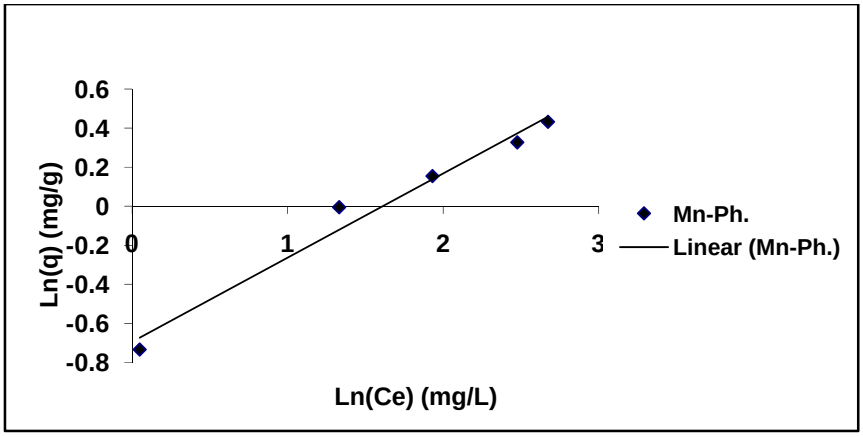
شکل (۴-۱۵) ایزوترم فرندلیچ برای جذب بیولوژیکی مس توسط .As



شکل (۴-۱۶) ایزوترم فرندلیچ برای جذب بیولوژیکی مس توسط .Ph



شکل (۴-۱۷) ایزوترم فرندلیچ برای جذب بیولوژیکی منگنز توسط .As



شکل (۴-۱۸) ایزوترم فرندلیچ برای جذب بیولوژیکی منگنز توسط .Ph

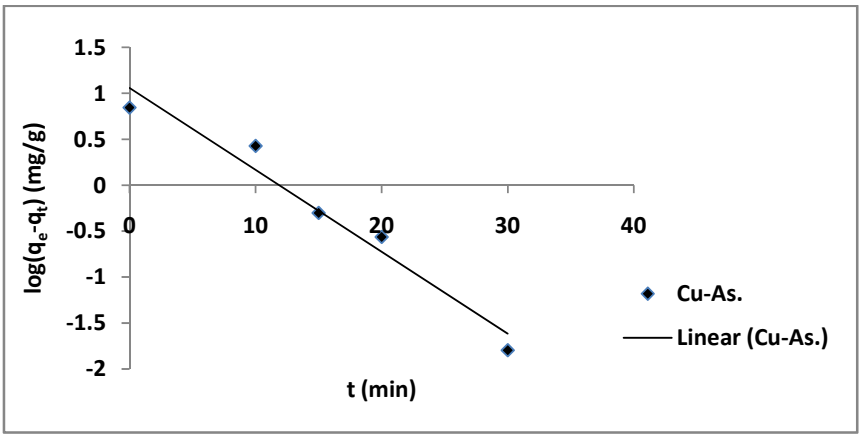
جدول(۴-۴) ثوابت و رگرسیون های خطی مدل جذبی فرندلیچ برای جذب یون های فلزی مس و منگنز توسط دو گونه قارچی .As و .Ph

فلز	گونه جاذب	K_f	N	R^2
Cu	As.	۷/۱۹۵	۱۹/۶۸۵	۰/۸۳۷۳
Cu	Ph.	۶/۵۹۷	۱۵/۵۰۴	۰/۷۹۹۲
Mn	As.	۰/۸۵۴	۳/۹۰۵	۰/۸۴۹۳
Mn	Ph.	۰/۴۹۹	۲/۳۱۹	۰/۹۷۶۴

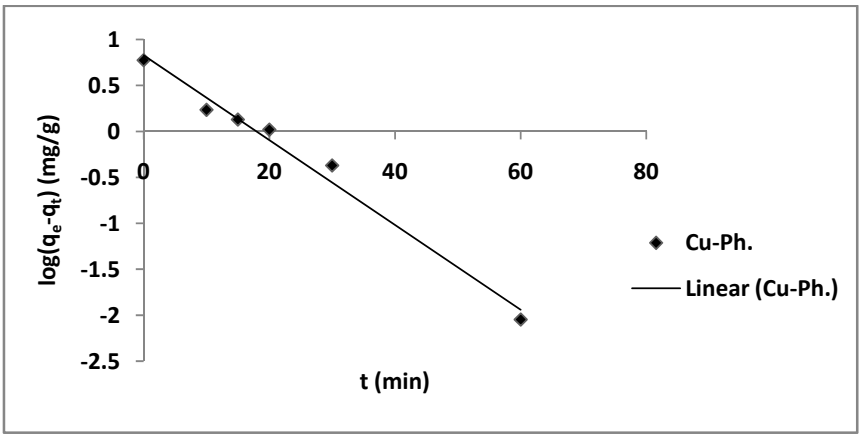
۴-۲-۸ بررسی سینتیک واکنش جذب در سیستم ناپیوسته

برای مدل سازی سینتیک واکنش جذب، از دو معادله شبه مرتبه اول لاگرگرین و شبه مرتبه دوم لاگرگرین استفاده شده و ثوابت سرعت واکنش تعیین گردیدند.

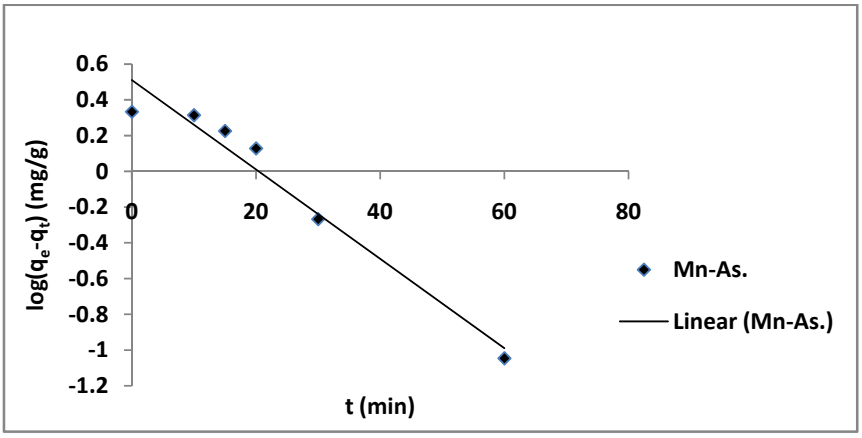
نتایج نشان می دهد که هر دو معادله شبه مرتبه اول و شبه مرتبه دوم قادر به تشریح فرآیند جذب بودند ولی فرآیند جذب یون فلزی منگنز توسط گونه قارچی .As تطابق بیشتری با مدل شبه مرتبه اول داشت. نمودارهای اشکال (۴-۱۹) تا (۴-۲۶) و جداول (۴-۵) و (۴-۶) این مطلب را به خوبی نشان می دهند:



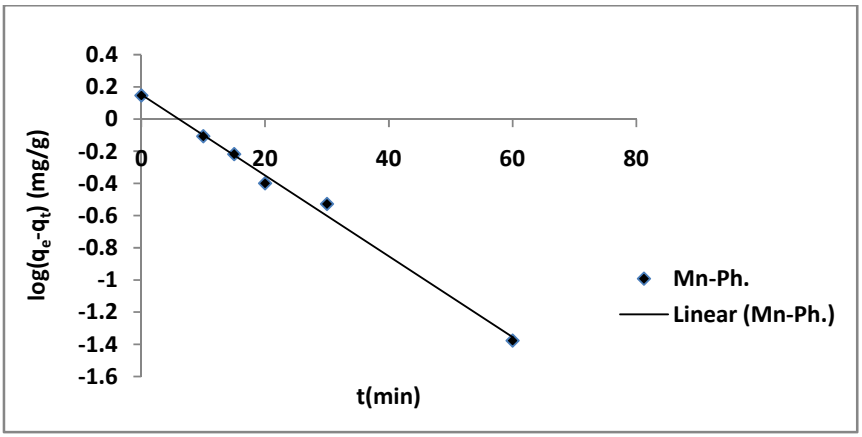
شکل (۴-۱۹) بررسی سینتیک واکنش جذب یون فلزی مس توسط .As (معادله شبه مرتبه اول)



شکل (۴-۲۰) بررسی سینتیک واکنش جذب یون فلزی مس توسط .Ph (معادله شبه مرتبه اول)



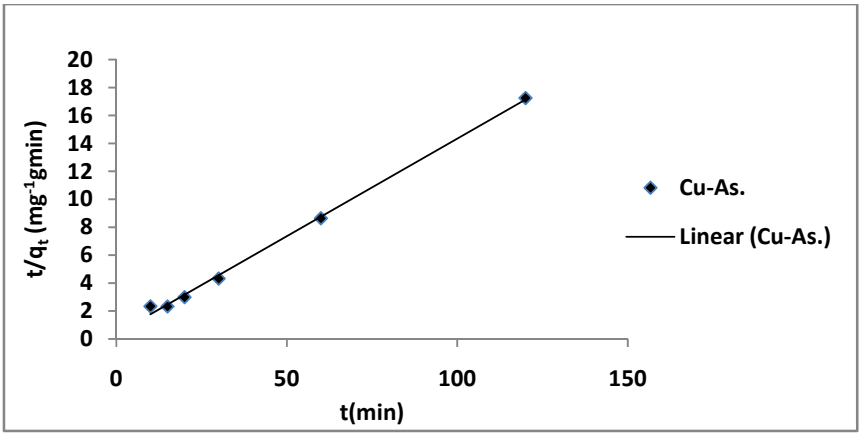
شکل (۴-۲۱) بررسی سینتیک واکنش جذب یون فلزی منگنز توسط .As (معادله شبه مرتبه اول)



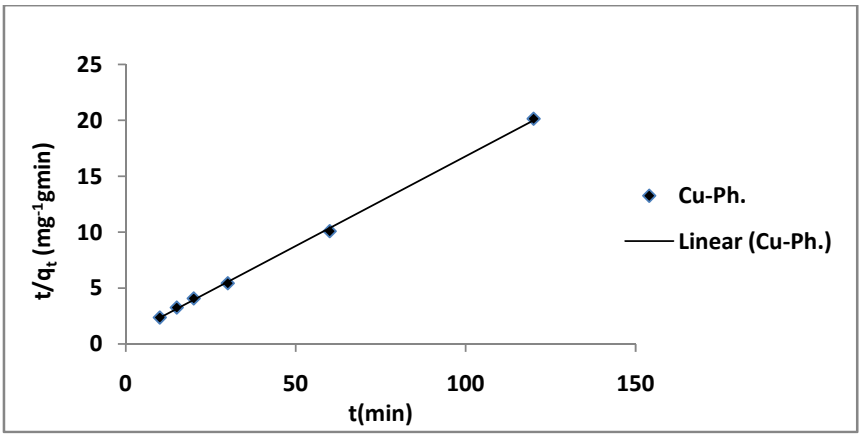
شکل (۴-۲۲) بررسی سینتیک واکنش جذب یون فلزی منگنز توسط .Ph (معادله شبه مرتبه اول)

جدول (۴-۵) ثوابت سرعت و رگرسیون های خطی مدل شبه مرتبه اول لاگرگرین

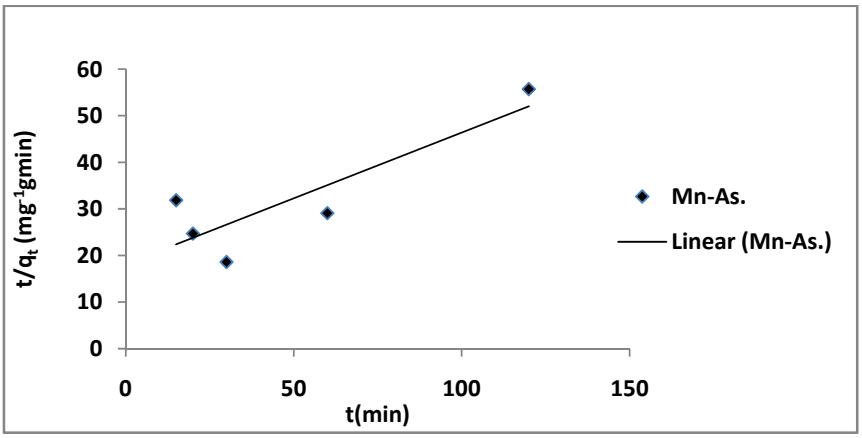
فلز	گونه جاذب	$K_{1,ad}$	R^2
Cu	As.	۰/۲۰۴۹۶۷	۰/۹۵۸
Cu	Ph.	۰/۱۰۵۹۳۸	۰/۹۸۳
Mn	As.	۰/۰۵۷۵۷۵	۰/۹۵۷
Mn	Ph.	۰/۰۵۷۵۷۵	۰/۹۹۳



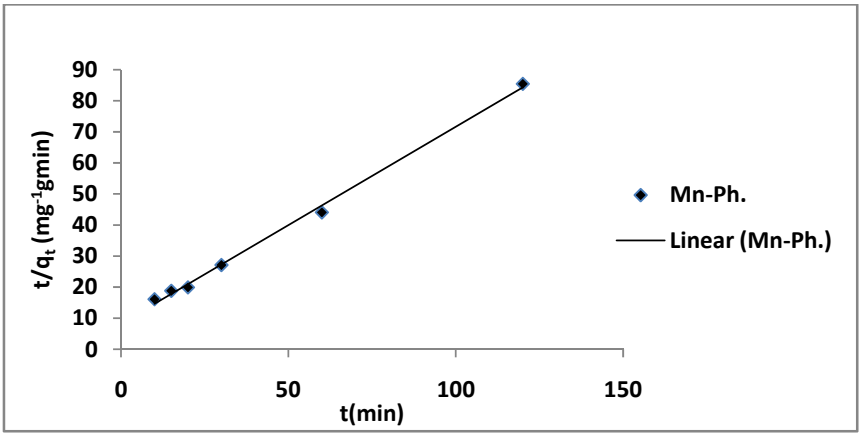
شکل (۴-۲۳) بررسی سینتیک واکنش جذب یون فلزی مس توسط .As (معادله شبه مرتبه دوم)



شکل (۴-۲۴) بررسی سینتیک واکنش جذب یون فلزی مس توسط .Ph (معادله شبه مرتبه دوم)



شکل (۴-۲۵) بررسی سینتیک واکنش جذب یون فلزی منگنز توسط .As (معادله شبه مرتبه دوم)



شکل (۴-۲۶) بررسی سینتیک واکنش جذب یون فلزی منگنز توسط .Ph (معادله شبه مرتبه دوم)

جدول (۴-۶) ثوابت سرعت و رگرسیون های خطی مدل شبه مرتبه دوم لاگرگرین

فلز	گونه جاذب	$K_{۲,ad}$	$R^۲$
Cu	As.	۰/۰۵۱۵۲۳	۰/۹۹۷
Cu	Ph.	۰/۰۳۵۲۶۲	۰/۹۹۹
Mn	As.	۰/۰۰۴۳۸۴	۰/۷۴۵
Mn	Ph.	۰/۰۴۸۲۳۵	۰/۹۹۷

۴-۳ نتایج حاصل از مدل سازی سیستم پیوسته

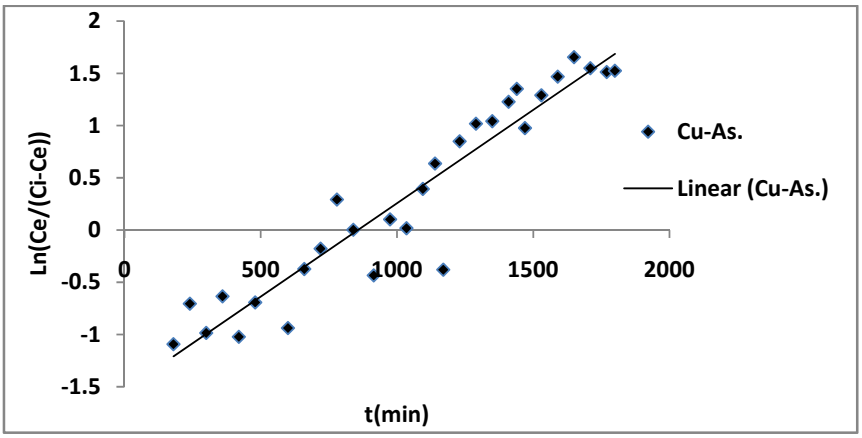
از آنجایی که ذرات پودری بایومس در تماس با زهاب، به هم می چسبند و راه خروج زهاب از ستون را سد می کنند، آنها را روی بستر آلژینات سدیم تثبیت نمودیم.

برای هر گونه قارچی یک ستون مجزا فراهم گردید و زهاب با سرعت ۶ میلی لیتر در دقیقه بر روی گرانول های بایومس و آلژینات هدایت شد و نتایج با مدل جذبی Yoon-Nelson بررسی گردید که تطابق خوبی با این مدل داشت و پارامترهای مدل نیز تعیین گردید.

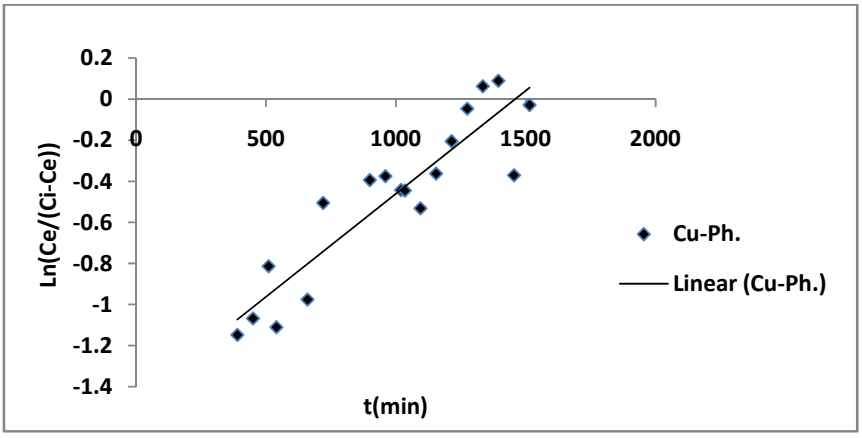
تعریف نقطه نفوذ یا رخنه[۱]:

نقطه نفوذ بالاترین حد منحنی تغییرات غلظت نسبی، نسبت به زمان است . یعنی زمانی که ستون اشباع می شود و تغییرات غلظتی بسیار ناچیز است و به صفر میل می کند و توانایی جذب ستون از بین می رود . این نقطه بر روی نموداری که در آن تغییرات C_e/C_i نسبت به زمان رسم شود، جایی است که نمودار موازی افق می گردد و جذب ثابت شده و دیگر با گذشت زمان تغییری نمی کند. در زمان های مختلف جای این نقطه در منحنی تغییر می کند، زیرا در سرعت های بالاتر سریع تر این نقطه به دست می آید. اشکال (۴-۲۷) تا (۴-۳۰) مدل جذبی Yoon-Nelson را برای جذب دو یون فلزی مس و منگنز توسط دو گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر و فنروکیت کریزوزپوریوم، در سیستم بستر ثابت با دبی زهاب ورودی ۶ میلی لیتر در دقیقه نشان می دهند.

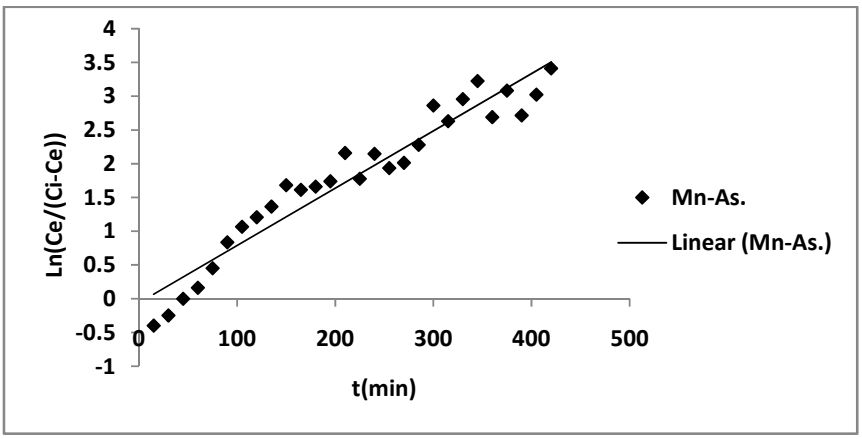
[۱] breakthrough



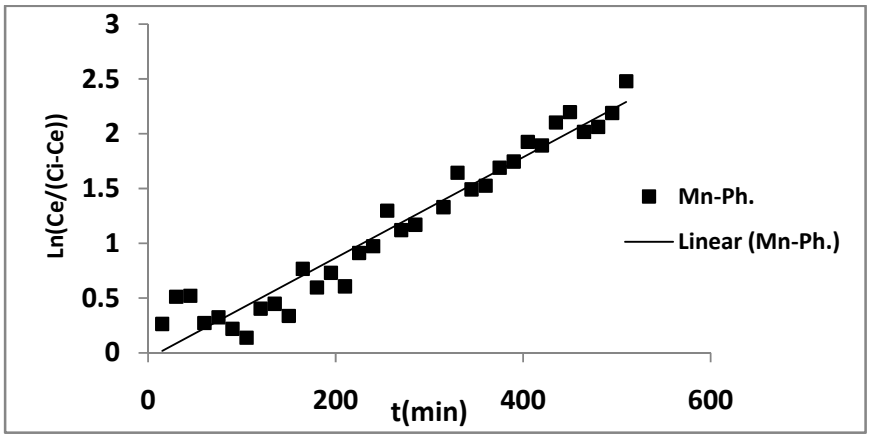
شکل (۴-۲۷) جذب بیولوژیکی مس توسط .As در بستر ثابت، دبی ورودی ۶ میلی لیتر در دقیقه



شکل (۴-۲۸) جذب بیولوژیکی مس توسط .Ph در بستر ثابت، دبی ورودی ۶ میلی لیتر در دقیقه



شکل (۴-۲۹) جذب بیولوژیکی منگنز توسط .As در بستر ثابت، دبی ورودی ۶ میلی لیتر در دقیقه



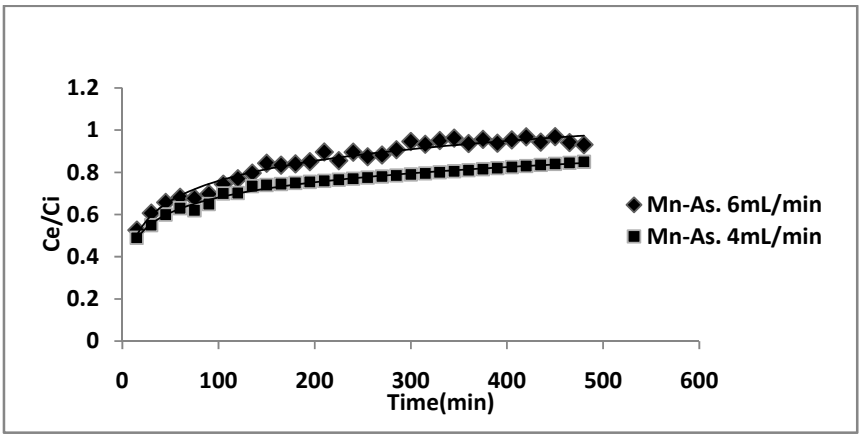
شکل (۴-۳۰) جذب بیولوژیکی منگنز توسط .Ph در بستر ثابت، دبی ورودی ۶ میلی لیتر در دقیقه

جدول (۴-۷) پارامترها و ضرایب رگرسیون مدل جذبی Yoon-Nelson

فلز	گونه جاذب	K_{YN}	τ	R^2
Cu	As.	۰/۰۰۲	۱۰۰۵	۰/۸۲۳
Cu	Ph.	۰/۰۰۱	۱۴۶۴	۰/۸۳۳
Mn	As.	۰/۰۰۸	۷/۶۲۵	۰/۹۲۷
Mn	Ph.	۰/۰۰۴	۱۲/۷۵	۰/۹۴۱

۴-۳-۱ بررسی تاثیر سرعت ورود زهاب بر روی فرآیند جذب

برای بررسی اثر دبی زهاب ورودی بر روی فرآیند جذب، برای گونه قارچی .As یک ستون با سرعت ورودی ۴ میلی لیتر در دقیقه ترتیب داده شد که نتایج نشان داد که هر چه سرعت ورود زهاب به ستون بیشتر باشد، اشباع ستون سریعتر اتفاق می افتد و در زمان صرفه جویی می گردد ولی در سرعت های بالا میزان خطا بیشتر از سرعت های پایین است. شکل (۴-۳۱) تاثیر دبی زهاب ورودی به ستون را بر روی جذب یون فلزی منگنز توسط گونه قارچی آسپرژیلوس نایجر نشان می دهد.



شکل (۴-۳۱) بررسی تاثیر دبی زهاب ورودی بر روی جذب منگنز توسط As.

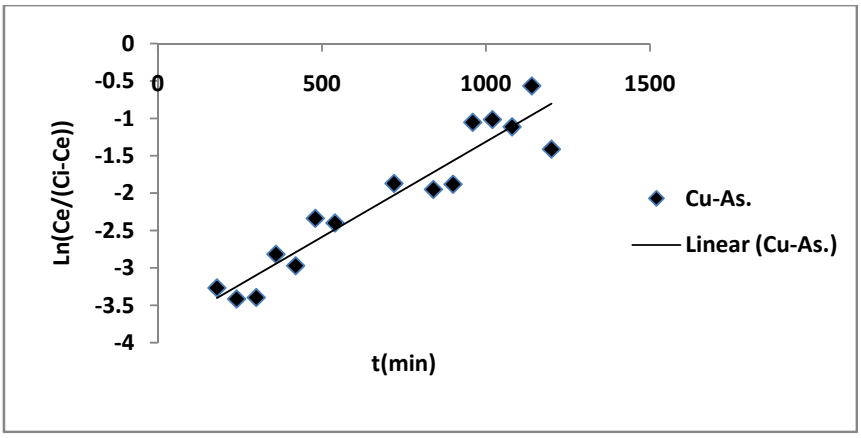
۴-۳-۲ بررسی اثر تداخل یون های موجود در زهاب بر روی کارکرد ستون و میزان جذب بایومس

برای بررسی اثر تداخلی یون های موجود در زهاب بر کارکرد ستون و میزان جذب فلز توسط گونه قارچی، اقدام به ساخت زهاب مصنوعی نمودیم. برای این منظور از نمک سولفات مس برای تهیه محلول فلزی مس با غلظت برابر با غلظت زهاب طبیعی استفاده شد و این محلول را همانند زهاب با سرعت ۶ میلی لیتر در دقیقه از ستون حاوی آلژینات و بایومس عبور دادیم. برای هر گونه قارچی یک ستون مجزا ترتیب داده شد تا اثر حضور یون های غیر از یون مورد نظر برای جذب (یون فلزی مس) را روی کارکرد ستون و میزان جذب بررسی گردد.

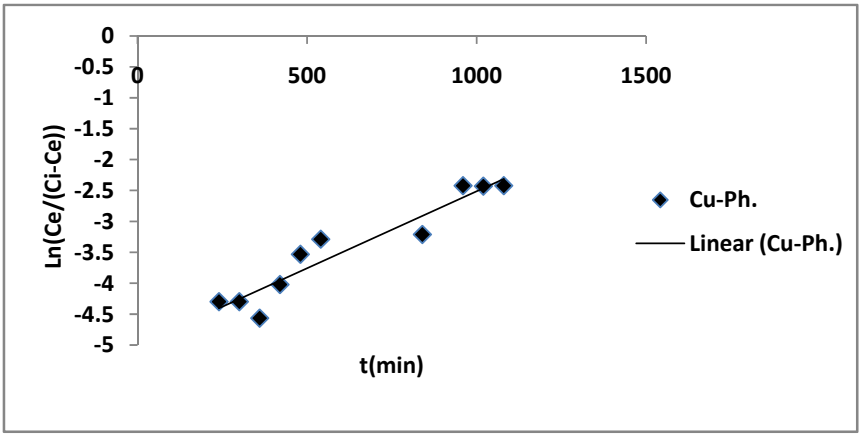
نتایج نشان داد که حضور یون های دیگر غیر از یون فلزی مس باعث می شود که ستون سریع تر اشباع شده و کارایی خود را برای جذب از دست بدهد. نتیجتاً میزان جذب یون فلزی مس نیز به دلیل عدم کارایی ستون پایین تر خواهد بود.

ایزوترم های جذب و ثوابت مدل جذبی در اشکال (۴-۳۲) و (۴-۳۳) و جدول (۴-۸) آمده است که از مقایسه پارامتر τ در دو حالت جذب از زهاب و جذب از محلول فلزی مس (جدول ۴-۹)، مشاهده

می گردد که این پارامتر که نشان دهنده زمانی است که غلظت خروجی از ستون نصف میزان غلظت ورودی می گردد، در حالت دوم یعنی جذب از محلول فلزی ساختگی، به مراتب بیشتر از زمانی است که جذب یون فلزی مس از زهاب طبیعی صورت می گیرد.



شکل (۴-۳۲) جذب بیولوژیکی مس از محلول فلزی ساختگی توسط .As در بستر ثابت، دبی ورودی ۶ میلی لیتر در دقیقه



شکل (۴-۳۳) جذب بیولوژیکی مس از محلول فلزی ساختگی توسط .Ph در بستر ثابت، دبی ورودی ۶ میلی لیتر در دقیقه

جدول (۴-۸) پارامترها و ضرایب رگرسیون مدل جذبی Yoon-Nelson برای جذب از زهاب مصنوعی

فلز	گونه جاذب	K_{YN}	τ	R^2
Cu	As.	۰/۰۰۲	۱۹۳۰/۵	۰/۹۰۵
Cu	Ph.	۰/۰۰۲	۲۵۰۱	۰/۹۰۷

۴-۳-۲-۱ مقایسه پارامترهای مدل جذبی Yoon-Nelson در جذب از زهاب طبیعی و محلول فلزی ساختگی

جدول (۴-۹) مقایسه پارامترهای مدل برای زهاب طبیعی و مصنوعی

فلز	گونه جاذب	τ زهاب	τ محلول فلزی
Cu	As.	۱۰۰۵	۱۹۳۰/۵
Cu	Ph.	۱۴۶۴	۲۵۰۱

همان طور که گفته شد τ مربوط به محلول فلزی بیشتر از مقدار به دست آمده برای زهاب است و این بدان معنا است که هنگامی که یون های دیگری جز یون فلزی مس در زهاب وجود دارد، ستون سریع تر اشباع شده و کارایی خود را برای جذب از دست می دهد و میزان جذب نیز پایین تر خواهد بود. هرچه غلظت یون مزاحم بیشتر شود میزان جذب کاهش بیشتری پیدا می کند. زیرا بین یون های فلزی در اتصال به سطوح جذبی رقابت حاصل شده و برخی از جایگاه های جذبی توسط یون های مداخله کننده تصاحب می شوند و باعث کاهش تعداد سطوح فعال جذبی می گردد که نتیجه آن، کاهش جذب است.

۴-۳-۳ بررسی عملیات دفع و بازیابی بایومس – آلژینات در بستر ثابت

برای بازیابی فلزات مس و منگنز از اسید نیتریک استفاده شده است. یون هیدرونیوم آزاد شده از اسید جایگزین فلز چسبیده به بایومس می شود و فلزات مس و منگنز از بایومس به صورت نیترات مس و نیترات منگنز خارج می شوند. بایومس - آلژینات بازیابی شده با کلسیم کلرید شستشو می شوند و برای مراحل جذبی بعدی آمده می گردند. راندمان این عمل بالا و حدود ۹۵ درصد است. این بستر می تواند مورد استفاده مجدد برای عملیات جذب قرارگیرد البته طبیعی است که راندمان اولیه را نخواهد داشت. مدت زمان لازم برای عملیات دفع کامل، حدود ۱۸۰ دقیقه می باشد.

۴-۳-۴ بررسی اثر شاهد

ستون شاهد که حاوی گویچه های آلژینات بدون بایومس می باشد نشان می دهد که آلژینات نمی تواند با فلز واکنش داده و یا فلزی را در خود نگاه دارد. آلژینات تنها باعث افزایش سطح تماس شده و اثری در جذب ندارد.

۴-۴ مقایسه عملیات جذب بیولوژیکی در سیستم ناپیوسته و پیوسته

بر اساس نتایج به دست آمده، راندمان عمل در سیستم پیوسته با بستر ثابت بالاتر از راندمان سیستم ناپیوسته می باشد . در سیستم پیوسته در ۱۵ دقیقه اول واکنش تا ۹۹ درصد فلز مس توسط گونه های قارچی جذب می گردد. در مورد یون فلزی منگنز بیش از ۵۰ درصد جذب در ۱۵ دقیقه اول واکنش صورت می گیرد ولی در سیستم ناپیوسته تحت همه شرایط بهینه تنها ۲۰ درصد منگنز توسط .Ph و ۲۳ درصد منگنز توسط .As جذب می شود. وضعیت جذب یون فلزی مس در سیستم پیوسته بهتر از منگنز بوده و تحت همه شرایط بهینه، ماکزیمم جذب مس توسط گونه قارچی .As ۹۸ درصد و توسط گونه قارچی .Ph ۹۰ درصد می باشد. راندمان بالا و زمان کوتاه باعث ارجحیت سیستم پیوسته شده است. همچنین مدت زمان بازیابی در سیتم پیوسته۳ ساعت و در سیستم ناپیوسته ۶ ساعت می باشد که بازهم ارجحیت سیستم پیوسته را نشان می دهد .

در سیستم ناپیوسته اتلاف بایومس زیاد است. در سیستم پیوسته چون بایومس در آلژینات محصور است، اتلافی وجود ندارد. در سیستم ناپیوسته بعد از عمل بازیابی بایومس را باید به مدت ۲۴ ساعت در آون گذاشت تا خشک شود اما در سیستم پیوسته بایومس را بلافاصله بعد از بازیابی می توان استفاده نمود .

فصل پنجم

نتیجه گیری و پیشنهادات

۵-۱ نتایج

جذب بیولوژیکی یون فلزی Cu^{2+} از زهاب معدن مس سرچشمه توسط دو گونه بایومس قارچی مرده (جوشانده شده در سود ۰/۵ نرمال) انجام شد. pH بهینه جذب، بین ۵ و ۶ بوده و مقدار بهینه جاذب، ۳ گرم در لیتر به دست آمد. با افزایش دما، میزان جذب، افزایش داشته و افزایش دور شیکر، جذب توسط قارچ .Ph را افزایش داده در حالی که این روند برای قارچ .As در دورهای بالاتر از rpm۱۵۰ روند معکوس دارد. ماکزیمم درصد جذب در همان ۳۰ دقیقه اول اتفاق می افتد. قارچ .As قابلیت جذب بالاتری (تا ۹۰ درصد) را برای جذب Cu از خود نشان داد. ایزوترم جذب در شرایط بهینه با مدل های جذب لانگمویر و فرندلیچ مطابقت داده شد که نتایج تطابق بیشتری با مدل لانگمویر داشت.

جذب بیولوژیکی یون فلزی Mn (II) از زهاب معدن مس سرچشمه نیز توسط دو گونه بایومس قارچی مرده (جوشانده شده در سود ۰/۵ نرمال) انجام شد. ماکزیمم جذب در محدوده pH بین ۵ و ۶ اتفاق افتاد. افزایش میزان جاذب، درصد جذب فلز را افزایش داد. با افزایش دما، میزان جذب، افزایش داشته و افزایش دور شیکر، جذب توسط قارچ .As را افزایش داده در حالی که این روند برای قارچ .Ph در دورهای بالاتر از rpm۱۵۰ روند معکوس دارد. مدت زمان جذب ۶۰ دقیقه به دست آمد. قارچ .As قابلیت جذب بالاتری را برای جذب Mn از خود نشان داد. ایزوترم جذب در شرایط بهینه با مدل های جذب لانگمویر و فرندلیچ مطابقت داده شد که تطابق بیشتری با مدل لانگمویر داشت.

در بررسی سینتیک واکنش جذب، مشخص گردید که در تمام موارد به جز جذب منگنز توسط .As، سینتیک واکنش از مرتبه دوم است. فرآیند جذب فلزات توسط بایومس قارچی یک فرآیند دو مرحله ای از نظر سرعت واکنش تشخیص داده شد که در مرحله اول، واکنش سریع است و مرحله دوم، ناحیه کند واکنش می باشد.

آزمایشات سیستم پیوسته نشان داد که حضور یون های دیگر، روی جذب گونه فلزی مورد نظر تاثیر گذاشته و جذب را پایین می آورند. افزایش دبی زهاب ورودی به ستون باعث صرفه جویی زمانی

می گردد. استفاده از سیستم پیوسته برای جذب گونه های فلزی توسط بایومس قارچی راندمان بیشتری نسبت به سیستم ناپیوسته دارد و باعث صرفه جویی زمانی و افزایش جذب می گردد. جذب مس تا ۹۹ درصد و منگنز تا ۵۰ درصد توسط سیستم پیوسته میسر شد. این در حالی است که سیستم ناپیوسته تنها ۲۰ درصد از منگنز موجود در زهاب را جذب نمود.

به طور کل جذب مس توسط گونه های قارچی بهتر جواب داده و .As توانایی جذب بیشتری نسبت به .Ph دارد.

۵-۲ پیشنهادات

- از گونه های قارچی استفاده شده در این تحقیق می توان برای جذب سایر یون های فلزی موجود در پساب های صنعتی استفاده نمود. همچنین می توان از گونه های قارچی دیگر یا میکروارگانیسم های دیگری که خاصیت جذب فلزات سنگین را دارند نظیر باکتری ها، مخمر ها و ... برای جذب فلزات سنگین استفاده نمود.
- جذب منگنز توسط این دو گونه قارچی از راندمان بالایی نظیر جذب مس برخوردار نبود. می توان به دنبال راه هایی برای افزایش جذب منگنز توسط این دو گونه قارچی یا استفاده از جاذب هایی با قدرت بالاتر جذب منگنز بود.
- روش های زیادی برای کشتن بایومس و تولید توده قارچی وجود دارد. می توان آن روش ها را نیز امتحان نموده و تفاوت میزان جذب را بررسی نماییم.
- با تغییر پارامترهایی نظیر طول ستون، قطر ستون، دبی زهاب ورودی، نسبت آلژینات به بایومس و ... می توان باعث افزایش کارایی سیستم پیوسته شد.
- تثبیت کننده های دیگری غیر از آلژینات نیز قابل بررسی است.

منابع

[۱] http//www.ngdir.ir

[۲] Hussein, H., Farag, S., Moawad, H.(۲۰۰٤). "Isolation and characterization of Pseudomonas resistant to heavy metals contaminants". **Arab. J. Biotechnol.** ۷, ۱۳–۲۲.

[۳] Ahalya, N., Ramachandra T.V. and Kanamadi, R.D., (۲۰۰۳) " Biosorption of Heavy Metals". **Research Journal of Chemestry and Environment**, ۷(٤), ۷۱-۷۹.

[٤] Volesky, B.(۱۹۹۰). "**Biosorption of heavy metals**". Boca Raton. Florida:CRC Press.

[٥] *Razmovski, R., ˇS ´ciban, M.* (۲۰۰۷) "Biosorption of Cr(VI) and Cu(II) by waste tea fungal biomass", **Ecological Engeneering**, ۳٤(۲), ۱۷۹-۱۸٦.

[٦] YETIS, U., DOLEK, A., DILEK, F. B., and OZCENGIZ, G. (۲۰۰۰) "THE REMOVAL OF Pb(II) BY PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM", **Water Res.** ۳٤(۱٦), ٤۰۹۰-٤۱۰۰.

[۷] Qingbiao Li, Songtao Wu,Gang Liu,Xinkai Liao,Xu Deng,(۲۰۰٤)."Simultaneous Biosrption of cadmium and lead ions by pretreated biomass of Phanerochaete Chrysosporium." **Separetion and purification Technology,** ۳٤, ۱۳٥-۱٤۲.

[۸] Park, D., Yun, Y. S. and Park, J. M.(۲۰۰٥)" Use of dead fungal biomass for the detoxification of hexavalent chromium: screening and kinetics" **Process Biochemistry**, ٤۲, ۲٥٥۹–۲٥٦٥.

[۹] Iqbal, M., Saeed, A.(۲۰۰۷)" Production of an immobilized hybrid biosorbent for the sorption of Ni(II) from aqueous solution" **Process Biochemistry,** ٤۲, ۱٤۸–۱٥۷.

[۱۰] Iqbal, M., Saeed. A. and Zafar, S. I.(۲۰۰۷)" Hybrid biosorbent: An innovative matrix to enhance thebiosorption of Cd(II) from aqueous solution" **J. of Hazardous Materials**, ۱٤۸, ٤۷–٥٥.

[۱۱] Lai, Y. L., Annadurai, G., Huang, F. Ch. and Lee, J. F.(۲۰۰۸)" Biosorption of Zn(II) on the different Ca-alginate beads from aqueous solution" **Bioresource Technology**, ۹۹, ٦٤۸۰–٦٤۸۷.

[۱۲] Quintelas, C., Fernandes, B., Castro, J., Figueiredo, H. and Tavares, T.(۲۰۰۸)" Biosorption of Cr(VI) by three different bacterial species supported on granular activated carbon—A comparative study" **J of Hazardous Materials**, ۱٥۳, ۷۹۹–۸۰۹.

[۱۳] مجید عرفان منش، مجید افیونی،(۱۳۸۴) **"آلودگی محیط زیست،آب و هوا"**، انتشارات ارکان.

[۱۴] مینو دبیری ،(۱۳۸۲)" **آلودگی محیط زیست،هوا،خاک،آب،صوت"**. نشر آیلار.

[۱۵] Evans, G. M., Furlong, J. C.,(۲۰۰۳) "**Environmental Biotechnology, Theory and Application**".*University of Durham, UK and Taeus Biotech Ltd.* John Wiley & Sons Ltd.

[۱٦] Jung, K., Bitton, G. and koopman, B. (۲۰۰۵)"selective assay for Heavy metal Toxicity using a fluorogenic substrate" **setac Journals online.**

[۱۷] کریم پور، م. ح. (۱۳۸۴)"اکتشاف ذخایر معدنی، مدل های زمین شناسی، ژئوشیمی، ماهواره ای و ژئوفیزیکی". انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

[۱۸] Technical Document. **Acid Mine Drainage Prediction**. (۱۹۹۴) U.S. Environmental Protection Agency.

[۱۹] دولتی ارده جانی، ف. و دیگران(۱۳۸۴) ."بیوتکنولوژی، ژئوشیمی زیست محیطی و مدیریت پساب ها". تهران، پژوهشکده صنایع رنگ ایران.

[۲۰] Kuyucak, N. (۲۰۰۱). "Microorganisms, biotechnology, and acid rock drainage-emphasis on passive-biological control and treatment methods. In: Mineral biotechnology, microbial aspects of mineral benefication, metal extraction, and environmental control." **Society for Mining, Metallurgy, and Exploration**, Inc. (SME), Littleton, Colorado, ۱٦۹-۱۸۸.

[۲۱] Robb, G.A. and Robinson, J.D.F. (۱۹۹۵). "Acid drainage from mines", The **Geographical J.,** ۱۷۱(۱), ٤۷-٥٤.

[۲۲] Pearce, P.F. and Ries, E.R. (۱۹۸۲). "Protection of environmental resources by effective mine water management." **Proceedings of First International Mine Water Congress of the International Mine Water Association** (IMWA), Budapest, Hungary, ۸۰-۹٥.

[۲۳] Saharan, M.R., Gupta, K.K., Jamal, A.S. (۱۹۹٥). "Management of acidic effluents from tailing dams in metalliferous mines." **Mine Water and the Environment**, ۱٤, ۸٥-۹٤.

[٢٤] Skousen, J. (٢٠٠٠). “Acid mine drainage treatment”. Division of Plant and Soil Science, College of Agriculture and Forestry.

[٢٥] Diz, H.R. (١٩٩٨). “The selective oxide system: Acid drainage treatment that avoids the formation of sludge.” **Mine Water and the Environment**, ١٧(١), ١-٧.

[٢٦] Environment Australia (١٩٩٧).” Managing sulphid mine wastes and acid drainage.” One booklet in a series on best practice environmental management in mining, Commonwealth of Australia.

[٢٧] Skousen, J. (٢٠٠٢). “Overview of passive systems for treating acid mine drainage.” West Virginia University, center for agriculture, natural resources, and community development.

[٢٨] ملک زاده، ف.(١٣٨٣)" میکروبیولوژی عمومی: برای دانشجویان رشته های میکروبیولوژی، زیست شناسی، پزشکی و رشته های وابسته" موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران.

[٢٩] Don Robinson, (٢٠٠٠), "Innovative technology group", CRA,٢(٤).

[٣٠] Hussein, H., Farag, S., Kamal Kandeel, I., Moawad, H.(٢٠٠٤). "Biosorption of heavy metals from waste water using Pseudomonas sp". **Electronic J. of Biotechnology**, ٧(١).

[٣١] زینی، ف. (١٣٧٧) قارچ شناسی پزشکی جامع. چاپ اول. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران.

[٣٢] زارع ایران، ح. (١٣٧٠) مبانی قارچ شناسی. چاپ اول، انتشارات فرهنگی جامع.

[٣٣] خراسانی، ی.(١٣٧٨) اصول قارچ شناسی. چاپ اول، شهریار،قم.

[٣۴] مظهر، ف. (١٣٧٨)، پایان نامه کارشناسی ارشد" استفاده از تکنیک پروتوپلاست یوژن در حذف پساب کارخانه های نساجی توسط Aspergillus niger وPhanerochaete Chrysosporium "، دانشکده میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شرق گیلان، لاهیجان.

[٣٥] Kelley, R. (١٩٨٦). “Identification of glucose oxidase activity as the primery source of hydrogen peroxide production in ligninolytic cultures of Phanerochaete Chrysosporium”. **Arch. Microbiol**. ١٤٤, ٢٤٨-٢٥٣.

[٣٦] Michael H,G.Margaret,A. (١٩٩٣). “Molecular Biology of the Lignin- Degrading Basidimycete Phanerochaete Chrysosporium”. **Microbiological Reviewe**. ٦٠٥-٦٢٢.

[۳۷] Moreira, M.T., Sanroman, A.,(۱۹۹٦). “Control of pellet morphology of Filamentous fungi in fluidized bed bioreactors by means of a pulsing flow. Application to Aspergillces niger and Phanerochaete Chtysosporium.” **Enzyme and Microbial Technology**. ۱۹, ۲٦۱-۲٦٦.

[۳۸] Kapoor, A., and Viraraghavan, T. (۱۹۹۷).”Biosorption of heavy metals on Aspergillus Niger:Effect of pretreatment”. **Bioresource Technology** ٦۳(۱۹۹۸) ۱۰۹-۱۱۳.

[۳۹] امیر افشار، ح. (۱۳۸۶)، پایان نامه کارشناسی ارشد " بررسی جذب بیولوژیکی سرب، کروم و روی در بستر ثابت" ، شیمی کاربردی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.

[۴۰] امامی، م. (۱۳۸۷)، پایان نامه کارشناسی ارشد" بررسی استخراج بیولوژیکی نیکل و کروم از پساب آبکاری"، شیمی کاربردی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.

[٤۱] Adams, D. J. et al., (۱۹۹٦)” Biotechnologies for Metal and Toxic Inorganic removal from Mining Process and Waste Solutions”, **Randol** Gold Forum, ۱٤۳-۱٤٦

[٤۲] Conde, J.E. and Alaejos M.S.;(۱۹۹۷) “Selenium Concentrations in Natural and Environmental Waters"**Chemical Reviews**, ۹۷(٦), ۱۹۷۹-۲۰۰۳.

[٤۳] Aydn, H. and Somer,G.;(۱۹۸۹) "Titrimetric Determination of Selenium in AnodicSlime.", Talanta, ۳٦, ۷۲۳-۷۲٦

[٤٤] Aydn, H. and Somer,G;(۱۹۸۹) “Anodic-Stripping Voltammetric Determination of Selenium in the…";**Analytical Sciences** , ۱۱٦, ۹٤۱-۹٤٥

[۴۵] صمیمی، ح.(۱۳۷۴). "آزمایشگاه اصول تصفیه آب و پساب های صنعتی"، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم پایه، دپارتمان شیمی، واحد تهران شمال.

[۴۶] فرسینیوس، و. (۱۳۸۰). "آنالیز آب"، جلد اول، احمد تقوایی پور، چاپ اول، انتشارات دانشگاه اراک.

[۴۷] Khambhaty, Y., Mody, K., Basha, Sh., Bhavanath Jha., (۲۰۰۸) “Kinetics, equilibrium and thermodynamic studies on biosorption of hexavalent chromium by dead fungal biomass of marine Aspergillus niger”, Discipline of Marine Biotechnology and Ecology, Central Salt and Marine Chemicals Research Institute (Council of Scientific and Industrial Research), GB Marg, Bhavnagar-۳٦٤۰۰۲, Gujarat, India.

[٤٨] Kapoor, A., Viraraghavan, T., Roy Cullimore, D., (١٩٩٨) "Removal of heavy metals using the fungus Aspergillus niger", University of Regina, Regina, Saskatchewan, Canada.

[٤٩] Mungasavalli, D. P., Viraraghavan, Th., Jin, Y. Ch.(٢٠٠٦), "Biosorption of chromium from aqueous solutions by pretreated Aspergillus niger: Batch and column studies", University of Regina, Regina, Saskatchewan, Canada.

[٥٠] Tobin, J. M., Whate, C., & Gadd, GM.(١٩٩٤)."Metal accumulation by fungi: Application in environmental biotechnology." **J. of industrial Microbiology**,١٣, ١٢٦-١٣٠.

[٥١] wang, N.(٢٠٠٤)"Cell immobilization with calcium alginate",Department of chemical Engineering university of Maryland.

[٥٢] Beshay, U.(٢٠٠٣), "production of alkaline protease by Teredinobacter turnirae cells immobilized in ca-alginate beads", **African J. of Biotechnology**, ٢, ٦٠-٦٥.

[٥٣] Mukhopadhyay, M., Noronha, S.B., Suraishkumar, G.K.,(٢٠٠٨) "Copper biosorption in a column of pretreated Aspergillus niger biomass". Indian Institute of Technology Bombay, Mumbai, India.

[٥٤] Chu, K.H.(٢٠٠٣) "Improved fixed bed models metal biosorption", **Chemical Engineering j.** (٢٣٣-٢٣٩).

[٥٥] Kratochvil, D., Volesky, B., Demopoulos, G.(١٩٩٧)"Optimizing Cu removal/recovery in a biosorption column," **water Res.** ٣١٢٣٢٧-٢٣٣٩.

[٥٦] Vijayaraghavan, K,. Yun, Y. S.,(٢٠٠٨)" Bacterial biosorbents and biosorption Division of Environmental and Chemical Engineering," Research Institute of Industrial Technology, Chonbuk National University, Chonju ٥٦١-٧٥٦.

Abstract

Acid Mine Drainage (AMD) containing high concentrations of heavy metals leads to many environmental problems. AMD occurs when sulphide-bearing minerals in rock are exposed to air and water, changing the sulphide to sulphuric acid that in turn dissolves heavy metals. The concentrations of Cu and Mn are high in the Sarcheshmeh copper mine drainages, southeast Iran. In this study, the biosorption of Cu and Mn ions from the Sarcheshmeh drainage was investigated using two native funguses called Aspergillus niger and Phanerochaete chrysosporium. The biosorption capacity of these two funguses was then compared. The live fungi was first harvested and then killed by boiling in ۰.۵ N NaOH solution. The biomass was finally dried at ٦۰ $^{\circ}C$ for ۲٤ h and powdered. The optimum biosorption parameters including pH, temperature, the amount of biosorbent, contact time and stirring speed were determined in a batch system. The optimum pH range was ٥-٦. It was found that the biosorption process increased with an increase in temperature and the amount of biosorbent. Increasing stirring speed raised biosorption process by Aspergillus niger whereas, biosorption by Phanerochaete chrysosporium decreased with stirring speed in particular for speeds above ۱٥۰ rpm. Biosorption data were attempted by various adsorption isotherms including Langmuir and Freundlich models. It was found that the biosorption process follows well the Langmuir isotherm model. Kinetics studies were also performed in the present study. The results show that the second-order kinetics model suits well the experimental data. The biosorption experiments were further carried out with a continuous system to compare the biosorption capacities obtained by this method and the batch system. The results fit well the Yoon-Nelson model. This research also contains the results obtained by desorption process in order to investigate reusing and recovering heavy metals.

The biomass of Aspergillus niger and Phanerochaete chrysosporium are suitable biosorbents for the removal of heavy metals from acid mine drainage.

Keywords: Acid mine drainage, biosorption, batch, continuous, Aspergillus niger, Phanerochaete chrysosporium.