

Investigating Mercury Interactions of *Rhodotorula Toruloides* IR-1395 for Mercury Bioremediation Processes in Aquatic Environments

Niosha Tavassoli Tabatabaei

Department of Biotechnology, Faculty of Basic Sciences and Advanced Technologies in Biology, Science and Culture University, Tehran, Iran, niush_tt@yahoo.com

Mohammad Reza Soudi

Department of Microbiology, Faculty of Biological Science, Alzahra University, Tehran, Iran, soudimr@gmail.com

Parisa Tajer-Mohammad-Ghazvini*

Materials and Nuclear Fuel Research School Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, Iran, ptajer@aeoi.org.ir

Shaghayegh Nasr

Microorganisms Bank, Iranian Biological Resource Center (IBRC), ACECR, Tehran, Iran, shaghayegh2963@yahoo.com

Marziyeh Bahrami-Bavani

Department of Microbiology, Faculty of Biological Science, Alzahra University, Tehran, Iran, m.bahrami1070@yahoo.com

Abstract

Introduction: Nowadays, the heavy metals pollution is one of the most important environmental problems. Due to the high cost of common refining methods, the use of microbial biomass is recommended to clean up heavy metals. The aim of this study was to evaluate the interactions of *Rhodotorula toruloides* strain IR-1395 with mercury.

Materials and methods: In this study, the growth rate and types of interactions of the strain IR-1395 with mercury in the Sucrose Broth medium were investigated and the amount of mercury accumulated was measured using the Spectrophotometry method. Then, in order to determine the best biosorption conditions, the effect of parameters such as pH, mercury concentration, biomass concentration, contact time, and the temperature was measured. Also, the biosorption was investigated by treated cells with 2,4 dinitrophenol and autoclave. Finally, the biosorbent was characterized by Scanning Electron Microscope equipped with Energy Dispersive X-Ray Analysis.

Results: Studies have shown that the maximum growth rate of the strain IR-1395 was after 36 hours and then it entered the stationary phase. Also, this strain was able to the biosorption and bioaccumulation (61.86%) and 10.17% biovolatilization of mercury from the medium at the concentration of 10 mg/l of chloride mercury for seven days. In examining the factors affecting the mercury biosorption, it was indicated that the optimal pH was 4. The highest biosorption was observed at 300 mg/l of mercury in 10 minutes at 15 °C. In the study of the effect of 2,4-dinitrophenol treatment and autoclave, it was found that mercury adsorption has reduced by the treated yeast. Finally, the results of the EDX confirmed the biosorption of mercury by this yeast.

Discussion and conclusion: By examining the types of interactions of the strain IR-1395 with mercury and its potential in biosorption, it was found that this strain is a valuable microorganism in mercury bioremediation processes from contaminated aquatic environments.

Key words: Bioaccumulation, Biosorption, Mercury, Volatilization, *Rhodotorula Toruloides*.

* Corresponding author

Received: March 19, 2020 / **Accepted:** July 8, 2020

فصلنامه علمی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها (نوع مقاله پژوهشی)

سال دهم، شماره ۳۷، بهار ۱۴۰۰، ص ۲۵-۳۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۱۸

Doi: [10.22108/BJM.2020.122197.1286](https://doi.org/10.22108/BJM.2020.122197.1286)

بررسی برهم‌کنش *Rhodotorula toruloides* strain IR-1395 با جیوه به‌منظور فرایندهای زیست‌پالایی جیوه از محیط‌های آبی

نیوشا توسلی طباطبایی: کارشناس ارشد گروه زیست‌فناوری میکروبی، دانشکده علوم پایه و فناوری‌های نوین زیستی، دانشگاه علم و فرهنگ، تهران، ایران، niush_tt@yahoo.com
محمدرضا صمودی: استاد گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء (س)، ونک، تهران، ایران، soudimr@gmail.com
پریسا تاجرمحمدقزوینی*: استادیار پژوهشکده مواد و سوخت هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران، ptajer@aeoi.org.ir
شقایق نصیر: استادیار پژوهشکده مواد و سوخت هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران، shaghayegh2963@yahoo.com
مرضیه بهرامی‌بوانی: کارشناس ارشد گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء (س)، ونک، تهران، ایران، m.bahrami1070@yahoo.com

چکیده

مقدمه: امروزه، آلودگی فلزات سنگین یکی از مهم‌ترین مشکلات محیط‌زیست است و با توجه به هزینه‌بر بودن روش‌های متداول پالایش، استفاده از زیست‌توده میکروبی برای پالایش فلزات سنگین پیشنهاد می‌شود. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی میان‌کنش مخمر *رودوترولا تورلوئیدس* سویه IR-1395 با جیوه انجام شد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه حاضر، میزان رشد و انواع برهم‌کنش سویه IR-1395 با جیوه در محیط ساکارزبراث بررسی و مقدار جیوه تجمع‌یافته در محیط و در مخمر به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد؛ سپس به‌منظور تعیین بهترین شرایط جذب زیستی، تأثیر شاخص‌های اسیدیته، غلظت جیوه، غلظت زیست‌توده، زمان مجاورسازی و دما سنجیده شد؛ همچنین میزان جذب توسط مخمر تیمار شده با ۲ و ۴ دی‌نیتروفلن و اتوکلاو بررسی و در نهایت، جذب زیستی جیوه توسط مخمر با میکروسکوپ الکترونی نگاره‌نگار مجهز به طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس بررسی شد.

نتایج: بررسی‌ها نشان دادند بیشترین رشد مخمر طی ۳۶ ساعت رخ می‌دهد و پس از آن، وارد فاز سکون می‌شود؛ همچنین این سویه قادر به جذب (جذب زیستی و تجمع زیستی) ۶۱/۸۶ درصد جیوه و فرآر سازی ۱۰/۱۷ درصد جیوه از محیط دارای ۱۰ میلی‌گرم برلیتر کلرید جیوه طی هفت روز است. در بررسی عوامل تأثیرگذار بر جذب زیستی جیوه مشخص شد اسیدیته بهینه برای این مخمر برابر ۴ است و بیشترین میزان جذب در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم برلیتر جیوه و در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه مشاهده می‌شود. در بررسی اثر تیمار ۲ و ۴ دی‌نیتروفلن و اتوکلاو مشخص شد میزان جذب توسط مخمر تیمار شده کاهش می‌یابد. نتایج طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس جذب زیستی جیوه توسط مخمر را تأیید کردند.

بحث و نتیجه‌گیری: بررسی انواع برهم‌کنش‌های سویه IR-1395 با جیوه و پتاسیل آن در جذب زیستی نشان داد این سویه، ریزموجود باارزشی در فرایندهای زیست‌پالایی جیوه از محیط‌های آبی آلوده است.

واژه‌های کلیدی: تجمع زیستی، جذب زیستی، جیوه، فرآر سازی، *رودوترولا تورلوئیدس*

* پژوهشکده مواد و سوخت هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران (نویسنده مسئول، ptajer@aeoi.org.ir)

مقدمه

وجود فلزات سنگین و سمی در محیط‌زیست به علت سمیت و اثر سرطان‌زای آنها روی بسیاری از شکل‌های حیات، یکی از نگرانی‌های مهم در سطح جهانی است (۱-۳)؛ در این بین، جیوه یکی از سمی‌ترین و پایدارترین فلزات است که از طریق عوامل طبیعی و فعالیت‌های صنعتی در محیط‌زیست رها می‌شود (۴ و ۵). جیوه دارای خاصیت ضدباکتریایی، ضدعفونی‌کنندگی و قارچ‌کشی است و از این رو، کاربردهای بسیاری دارد؛ همچنین در صنایع مختلف از جمله دندانپزشکی و در نیروگاه‌های هسته‌ای (به شکل جذب‌کننده نوترون) استفاده می‌شود (۶). با توجه به آثار زیست‌محیطی جیوه، روش‌های مختلف فیزیکی و شیمیایی برای اصلاح آلودگی ناشی از آن استفاده می‌شوند. روش‌هایی مانند اسمز معکوس، فیلتراسیون، استخراج حلال و غیره محدودیت‌هایی از جمله هزینه زیاد و تغییر دادن ویژگی‌های محیطی دارند و ناکارآمد هستند؛ علاوه بر این، فرایندهای یادشده در غلظت‌های کم فلز اثری ندارند (۷). امروزه زیست‌پالایی^۱، فرایند جایگزینی است که برای حذف فلزات سنگین و سمی استفاده می‌شود؛ زیرا روشی ساده و مقرون به صرفه است. در بین روش‌های زیست‌پالایی، جذب زیستی^۲، ذخیره‌سازی زیستی^۳ و فرارسازی^۴ از مهم‌ترین فرایندهای در دسترس برای حذف جیوه محسوب می‌شوند. طی سال‌های اخیر، مطالعه‌های بسیاری در زمینه استفاده از انواع مختلف ریزموجودات برای پالایش فلز جیوه انجام شده‌اند. جذب زیستی، توانایی انواع خاصی از زیست‌توده‌های میکروبی به شکل غیرفعال و مرده برای اتصال به برخی از مواد شیمیایی و فلزات سنگین در محلول‌های آبی است؛ در حالی که

ذخیره‌سازی زیستی به انتقال فعال این مواد به درون سلول اشاره دارد (۸). فرارسازی، تبدیل آنزیمی ترکیبات معدنی یا آلی فلزات یا شبه‌فلزات به مشتقات فرار آنها طی واکنش بیوشیمیایی درون‌سلولی است (۹). جذب زیستی از مؤثرترین و غیرمخرب‌ترین روش‌ها به شمار می‌آید که به علت هزینه کم، سادگی طراحی، استفاده آسان، بی‌نیازی به زیست‌توده فعال، قابلیت استفاده مجدد از جاذب و نداشتن حساسیت به مواد سمی به طور گسترده برای زدایش فلزات از محلول‌های آبی استفاده می‌شود (۵ و ۱۰-۱۲). گروه‌های متفاوتی از میکروب‌ها از جمله باکتری‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها و مخمرها در جذب و حذف جیوه از محیط‌زیست دخالت دارند؛ در این بین، سلول‌های مخمر به علت ایمن بودن و سهولت استفاده مدنظر پژوهشگران بسیاری قرار گرفته‌اند. زیست‌توده‌های مخمر می‌توانند در شرایط محیطی مختلف مانند اسیدیته، دما، در دسترس بودن مواد مغذی و غلظت زیاد فلزات سازگار شوند و رشد کنند (۶ و ۱۳). هدف مطالعه حاضر، بررسی انواع برهم‌کنش مخمر بومی رودوترولا تورلوئیدس سویه IR-1395^۵ با جیوه و انتخاب روش مؤثری برای زدایش جیوه از محلول‌های آبی در غلظت‌های کم فلز بود؛ از این رو، روش جذب زیستی به علت مقرون به صرفه بودن، نیاز نداشتن به زیست‌توده زنده، زمان کم برای انجام فرایند انتخاب اثر متغیرهای تأثیرگذار بر آن مانند غلظت جیوه، دما، اسیدیته محلول، غلظت زیست‌توده و زمان تماس بررسی شد. با توجه به کمبود اطلاعات در زمینه توانایی مخمرهای بومی و محلی در از بین بردن مقدار کم آلاینده جیوه، نتایج پژوهش حاضر برای بومی‌سازی زیست‌پالایی جیوه اهمیت بسیاری دارند.

مواد و روش‌ها

منبع ریزموجود: در پژوهش حاضر، مخمر رودوترولا تورلوئیدس سویه IR-1395 جدا شده از لیچ لیکور فرایند فروشویی زیستی کانسنگ معدن ساغند یزد مطالعه شد (پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای). توالی جدید ژن *18S rRNA* و ژن *ITS* سویه یاد شده در پایگاه اطلاعاتی GenBank در NCBI با عدد دسترسی توالی نوکلئوتیدی KX452402.1 ثبت شده است (پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای).

بررسی رشد مخمر در محیط کشت مایع: ابتدا محیط کشت پیتون ساکارزبراث (۴۰ گرم در لیتر ساکارز و ۵ گرم در لیتر پیتون) ساخته (۱۴) و به میزان ۲/۵ درصد مایه تلقیح مخمر از کشت تازه ۲۴ ساعته به آن اضافه و سپس در انکوباتور شیکردار با سرعت ۷۰ دور در دقیقه و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد. میزان کدورت در طول موج ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر در زمان‌های معین (۳ تا ۳۶ ساعت) خوانده و منحنی رشد مخمر رسم شد.

سنجش جیوه به روش اسپکتروفتومتری: به منظور سنجش جیوه، محلول ۰/۰۱ مولار کلرید جیوه، محلول ۰/۰۱ درصد CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide) و محلول 10^{-3} مولار (معادل ۰/۰۰۱ مولار) $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ با ۱۸/۳ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ مولار سبس محلول بافر بوراکس 10^{-2} مولار (۵۰ میلی‌لیتر از محلول ۰/۰۲۵ مولار بوراکس ساخته شده از سدیم هیدروکسید با اسیدیته ۱۰) ساخته شد. در فلاسک‌های به حجم ۱۰ میلی‌لیتر به ترتیب حجم‌های مختلفی از محلول جیوه استوک ریخته شد و سپس به هر فلاسک، مقدار ۰/۳ میلی‌لیتر محلول 10^{-3} EDTA

مولار، ۰/۱ میلی‌لیتر محلول CTAB ۰/۰۱ درصد و ۰/۳ میلی‌لیتر محلول MBT 10^{-3} مولار اضافه و با بافر بوراکس به حجم رسانده شد؛ در انتها، نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۴۰ نانومتر سنجیده شدند (۱۵).

بررسی انواع برهم کنش سویه IR-1395 با جیوه: در این آزمایش از محیط کشت پیتون ساکارزبراث (۴۰ گرم در لیتر ساکارز و ۵ گرم در لیتر پیتون) به همراه کلرید جیوه با غلظت نهایی ۱۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد؛ مقدار ۵ درصد مایه تلقیح مخمر از کشت تازه ۲۴ ساعته به ارلن‌ها اضافه و نمونه‌ها در انکوباتور شیکردار با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند؛ سپس در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت، نمونه‌برداری از مایع رویی و همچنین از زیست توده مخمری انجام و مقدار تجمع جیوه در محیط کشت و درون زیست توده مخمری هضم شده با اسید (کلریدریک اسید: نیتریک اسید به نسبت ۱:۳) بررسی شد.

تولید زیست توده برای انجام آزمایش‌های جذب زیستی جیوه: به منظور تولید زیست توده، میزان ۱۰ درصد از کشت تازه ۲۴ ساعته مخمر به محیط کشت پیتون ساکارزبراث (۴۰ گرم در لیتر ساکارز و ۵ گرم در لیتر پیتون) اضافه و سپس فلاسک‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. پس از رشد مخمر، زیست توده با سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه در ۶۵۰۰ دور در دقیقه و دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد جدا شد؛ سپس سلول‌های مخمر با آب مقطر شسته و در آزمایش‌های جذب استفاده شدند.

بررسی تأثیر عوامل مختلف بر جذب زیستی جیوه توسط سویه IR-1395: ابتدا ظرف‌های استفاده شده برای آزمایش‌های جذب جیوه با اسید و آب مقطر شسته

شدند. شرایط ثابت آزمایش‌ها شامل ۲۰ میلی‌لیتر محلول جیوه با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر، سرعت هم‌زن ۷۰ دور در دقیقه، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت و ۰/۳ گرم زیست‌توده بود.

به منظور بررسی تأثیر میزان اسیدیته بر جذب زیستی جیوه، محلول‌های جیوه با اسیدیته ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ ساخته شدند و زیست‌توده مخمري به آنها اضافه شد. پس از گرماگذاری به مدت یک ساعت در انکوباتور شیکردار با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، زیست‌توده مخمري از محلول‌ها جداسازی و میزان جیوه جذب شده سنجیده شد.

به منظور بررسی اثر غلظت فلز بر جذب زیستی، محلول‌های جیوه با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به زیست‌توده مخمر اضافه و نمونه‌ها به مدت یک ساعت در انکوباتور شیکردار با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. پس از جداسازی زیست‌توده از محلول‌ها، تأثیر غلظت جیوه بر میزان جذب زیستی سنجیده شد. به منظور جلوگیری از تولید پساب جیوه، آزمایش‌های بررسی تأثیر غلظت فلز بر جذب زیستی تا ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر انجام شدند.

به منظور بررسی تأثیر زیست‌توده، مقدار ۰/۰۱، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۰/۲ گرم وزن خشک به محلول جیوه اضافه و نمونه‌ها به مدت یک ساعت در انکوباتور شیکردار با سرعت ۷۰ دور در دقیقه و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. پس از جداسازی زیست‌توده از محلول‌ها، میزان جیوه جذب شده با فیلتر سرسرنگی سنجیده شد.

به منظور بررسی زمان مجاورسازی، زیست‌توده مخمر به محلول جیوه اضافه و به مدت ۵، ۱۰، ۲۰، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه در انکوباتور شیکردار با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد

ارزیابی اطلاعات: مقدار جذب زیستی توسط

زیست‌توده از رابطه ۱ محاسبه شد (۱۲):

$$Q = \frac{(V_0 C_0 - V_f C_f)}{M} \quad \text{رابطه ۱}$$

که در آن، Q مقدار جذب فلز (میلی‌گرم در گرم وزن خشک)، V_0 و V_f به ترتیب حجم اولیه و نهایی محلول فلزی (لیتر)، C_0 غلظت اولیه فلز در محلول (میلی‌گرم در لیتر)، C_f غلظت نهایی فلز در محلول (میلی‌گرم در لیتر)، M وزن خشک زیست‌توده (گرم) است.

بازده جذب یا R (%) از رابطه ۲ محاسبه شد (۱۲):

$$R(\%) = \frac{(C_0 - C_f)}{C_0} \times 100 \quad \text{رابطه ۲}$$

بررسی جذب زیستی جیوه در سلول‌های مخمري پیش‌تیمار شده

مقدار زیست‌توده تیمار شده با ۲ و ۴ دی‌نیتروفنل:

مقدار ۱ گرم از توده سلولی به مدت یک ساعت با محلول ۰/۵ مولار ۲ و ۴ دی‌نیتروفنل مجاورسازی و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و با آب مقطر شستشو شد (۱۶). به منظور آزمایش‌های جذب زیستی جیوه، ۰/۳ گرم از زیست‌توده تیمار شده با ۲۰ میلی‌لیتر محلول ۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلرید جیوه مجاور و سپس به مدت یک ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد

شدند. شرایط ثابت آزمایش‌ها شامل ۲۰ میلی‌لیتر محلول جیوه با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر، سرعت هم‌زن ۷۰ دور در دقیقه، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت و ۰/۳ گرم زیست‌توده بود.

به منظور بررسی تأثیر میزان اسیدیته بر جذب زیستی جیوه، محلول‌های جیوه با اسیدیته ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ ساخته شدند و زیست‌توده مخمري به آنها اضافه شد. پس از گرماگذاری به مدت یک ساعت در انکوباتور شیکردار با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، زیست‌توده مخمري از محلول‌ها جداسازی و میزان جیوه جذب شده سنجیده شد.

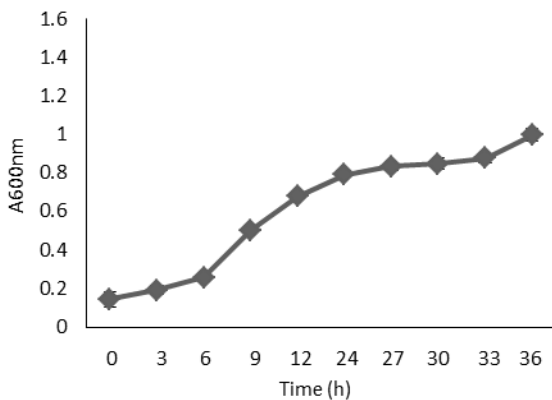
به منظور بررسی اثر غلظت فلز بر جذب زیستی، محلول‌های جیوه با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به زیست‌توده مخمر اضافه و نمونه‌ها به مدت یک ساعت در انکوباتور شیکردار با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. پس از جداسازی زیست‌توده از محلول‌ها، تأثیر غلظت جیوه بر میزان جذب زیستی سنجیده شد. به منظور جلوگیری از تولید پساب جیوه، آزمایش‌های بررسی تأثیر غلظت فلز بر جذب زیستی تا ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر انجام شدند.

به منظور بررسی تأثیر زیست‌توده، مقدار ۰/۰۱، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۰/۲ گرم وزن خشک به محلول جیوه اضافه و نمونه‌ها به مدت یک ساعت در انکوباتور شیکردار با سرعت ۷۰ دور در دقیقه و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. پس از جداسازی زیست‌توده از محلول‌ها، میزان جیوه جذب شده با فیلتر سرسرنگی سنجیده شد.

به منظور بررسی زمان مجاورسازی، زیست‌توده مخمر به محلول جیوه اضافه و به مدت ۵، ۱۰، ۲۰، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه در انکوباتور شیکردار با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد

نتایج

بررسی سینتیک رشد مخمر رودوترولا تورلوئیدس سویه IR-1395 در محیط مایع: در پژوهش حاضر، سینتیک رشد مخمر در محیط کشت مایع طی زمان‌های مختلف بررسی شد. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، بیشترین میزان رشد طی ۳۶ ساعت رخ می‌دهد. مخمر بین صفر تا ۶ ساعت در فاز رکود (تأخیری) است و سپس وارد فاز نمایی و پس از گذشت ۳۶ ساعت، وارد فاز سکون می‌شود.



شکل ۱- میزان رشد مخمر رودوترولا تورلوئیدس سویه IR-1395 طی ۳۶ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد

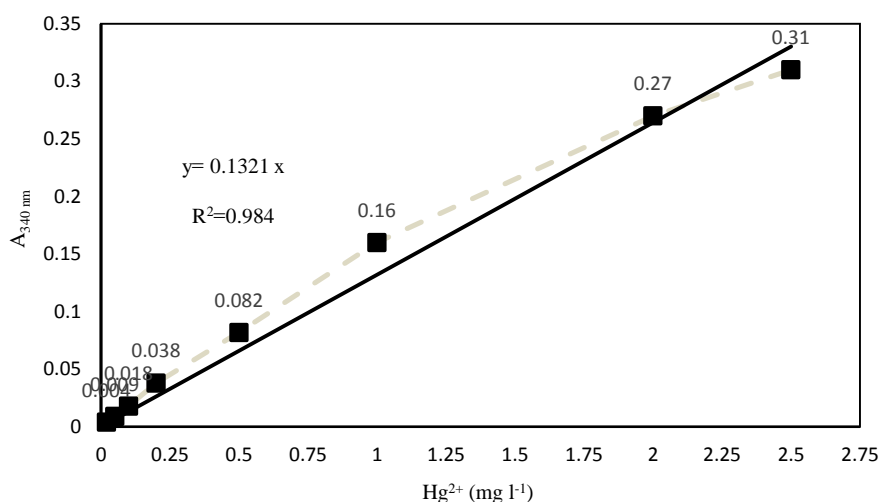
رسم منحنی استاندارد سنجش جیوه: هدف از این آزمایش، اندازه‌گیری میزان جیوه در محلول به روش اسپکتروفوتومتری بود و جذب زیستی توسط سویه IR-1395 با استفاده از این روش و اندازه‌گیری میزان جیوه باقیمانده در محیط اندازه‌گیری شد. شکل ۲، منحنی استاندارد سنجش جیوه با R^2 برابر با ۰/۹۸۴۲ را نشان می‌دهد.

گرماگذاری شد. پس از پایان زمان گرماگذاری، زیست‌توده از محلول جدا و میزان جیوه جذب‌شده سنجیده شد.

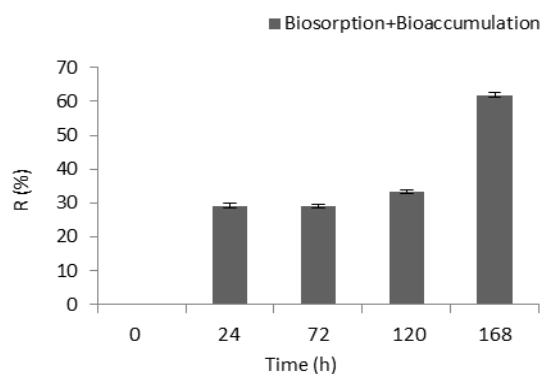
زیست‌توده تیمار شده در اتوکلاو: در این آزمایش، مقدار ۱ گرم زیست‌توده گرماگذاری شد؛ سپس ۰/۳ گرم از زیست‌توده تیمار شده با ۲۰ میلی‌لیتر محلول ۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلرید جیوه مجاور و به مدت یک ساعت در انکوباتور ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد. پس از پایان گرماگذاری، زیست‌توده از محلول جدا و میزان جیوه جذب‌شده سنجیده شد.

بررسی جذب زیستی جیوه توسط مخمر با میکروسکوپ الکترونی نگاره^۷

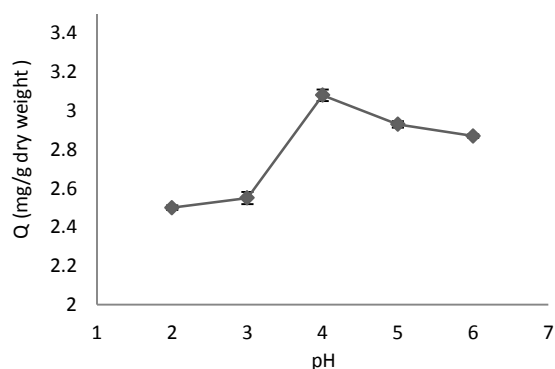
سلول‌های رشد یافته مخمر رودوترولا تورلوئیدس سویه IR-1395 در محیط کشت حاوی جیوه با میکروسکوپ الکترونی نگاره بررسی شدند؛ به این منظور، ابتدا لامل‌های شیشه‌ای با ابعاد تقریبی ۱۰ در ۱۰ میلی‌متر تهیه و درون محلول آگار ۰/۸ درصد غوطه‌ور شدند و سپس به مدت ۳۰ تا ۴۵ دقیقه به شکل افقی قرار داده شدند. پس از بستن آگار، نمونه‌ها روی لامل‌ها پخش شدند و برای خشک شدن آگار، لامل‌ها به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند؛ سپس نمونه‌ها به طور متوالی و به مدت ۳۰ دقیقه در اتانول از غلظت کم به زیاد (۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۹۶، ۹۹/۹ درصد) و در نهایت، به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (۱۷). پوششی از طلا با دستگاه Ion-Coater (KIC-IA, COXEM) روی نمونه‌های آماده شده نشانده شد و سپس نمونه‌ها با میکروسکوپ الکترونی نگاره (ZEISS EVO 18 Special Edition) بررسی شدند.



شکل ۲- منحنی استاندارد سنجش جیوه بر اساس تغییرات جذب نوری بر حسب تغییرات غلظت جیوه در محلول آبی



شکل ۳- میزان جذب جیوه توسط مخمر رودوترولا تورلوئیدس سویه IR-1395 از محلول‌های دارای کلرید جیوه با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر طی مدت زمان یک هفته



شکل ۴- نمودار تأثیر میزان اسیدیته بر جذب زیستی مخمر رودوترولا تورلوئیدس سویه IR-1395 (زمان ۶۰ دقیقه، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و میزان هوادهی ۷۰ دور در دقیقه)

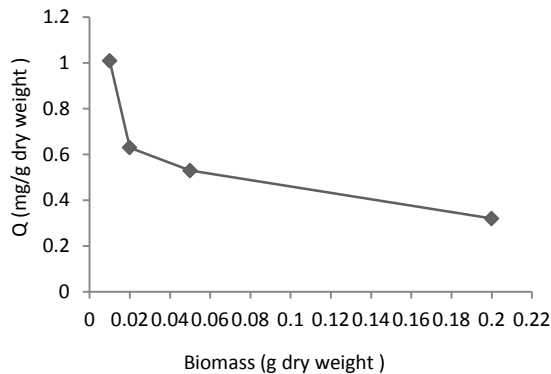
بررسی انواع برهم‌کنش سویه IR-1395 با جیوه:

نتایج نشان دادند مخمر رودوترولا تورلوئیدس سویه IR-1395 در مجاورت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر جیوه در محیط کشت قادر به جذب ۶۱/۸۶ درصد جیوه و فرآر سازی ۱۰/۱۷ درصد جیوه از محیط پس از گذشت یک هفته است (شکل ۳).

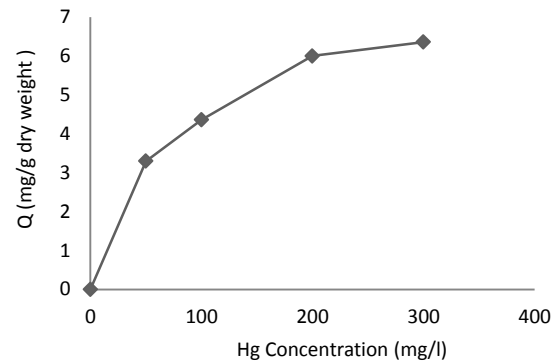
اثر عوامل محیطی بر جذب زیستی: از آنجاکه

اسیدیته یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر فرایند جذب زیستی است، اثر اسیدیته بر جذب جیوه توسط مخمر یادشده در دامنه اسیدیته ۲ تا ۶ ارزیابی شد. نتایج نشان دادند بیشترین مقدار جذب در اسیدیته ۴ و برابر با ۳/۰۸ میلی‌گرم در گرم وزن خشک است (شکل ۴).

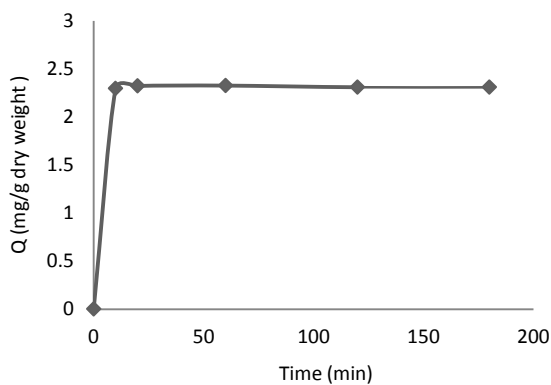
همان‌طور که در شکل ۵ دیده می‌شود، مقدار جذب زیستی جیوه توسط این سویه با افزایش غلظت جیوه افزایش می‌یابد و در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به بیشترین مقدار خود (۶/۳۶ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) می‌رسد.



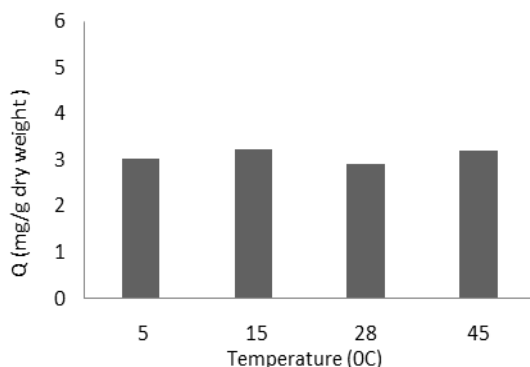
شکل ۵- تأثیر غلظت‌های مختلف زیست توده بر جذب زیستی جیوه توسط مخمر رودوترولا تورلویئیدس سویه IR-1395 (اسیدیته ۴، زمان ۶۰ دقیقه، دمای ۲۸ درجه سانتی گراد و میزان هوادهی ۷۰ دور در دقیقه و غلظت جیوه ۵۰ میلی گرم در لیتر)



شکل ۶- تأثیر غلظت اولیه جیوه بر جذب زیستی مخمر رودوترولا تورلویئیدس سویه IR-1395 (اسیدیته ۴، زمان ۶۰ دقیقه، دمای ۲۸ درجه سانتی گراد و میزان هوادهی ۷۰ دور در دقیقه)



شکل ۷- میزان جذب زیستی مخمر رودوترولا تورلویئیدس سویه IR-1395 در زمان‌های مختلف



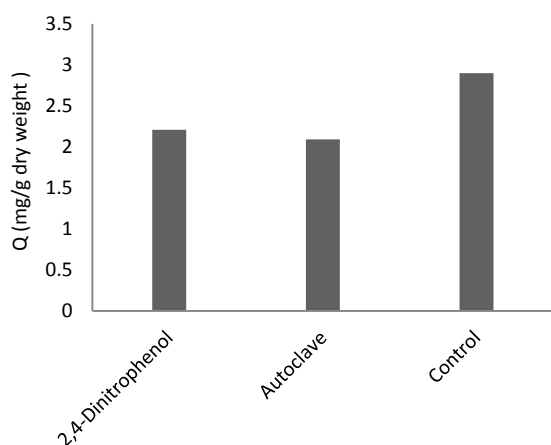
شکل ۸- تأثیر دما بر جذب زیستی جیوه توسط مخمر رودوترولا تورلویئیدس سویه IR-1395 (اسیدیته ۴، زمان ۶۰ دقیقه، میزان هوادهی ۷۰ دور در دقیقه و غلظت جیوه ۵۰ میلی گرم در لیتر)

عامل دیگری که اثر آن بر جذب زیستی جیوه بررسی شد، غلظت زیست توده بود (شکل ۶). نتایج نشان دادند مقدار ظرفیت جذب با افزایش غلظت زیست توده مخمر رودوترولا تورلویئیدس سویه IR-1395 کاهش می‌یابد.

به منظور بررسی اثر زمان بر میزان جذب زیستی مخمر رودوترولا تورلویئیدس سویه IR-1395، زمان‌های مختلف بررسی شدند؛ در این آزمایش، غلظت اولیه جیوه در محیط برابر ۵۰ میلی گرم در لیتر بود. نتایج نشان دادند در ۱۰ دقیقه اول، مخمر یادشده قادر به جذب سریع جیوه از محیط است و این جذب پس از ۶۰ دقیقه به بیشترین مقدار خود (۲/۳۲ میلی گرم در گرم وزن خشک) می‌رسد و پس از گذشت زمان یادشده، مقدار آن ثابت می‌شود (شکل ۷).

نتایج بررسی تأثیر دما بر میزان جذب زیستی جیوه توسط مخمر نشان دادند سویه IR-1395 توانایی جذب زیستی در هر چهار دمای بررسی شده را دارد؛ همچنین نتایج نشان دادند دامنه دمایی ۵ تا ۴۵ درجه سانتی گراد تأثیر چندانی بر مقدار جذب فلز جیوه ندارد، اما بیشترین جذب در دمای ۱۵ درجه سانتی گراد و برابر با ۳/۲۳ میلی گرم در گرم وزن خشک است (شکل ۸).

مقاومت مخمر رودوترولا تورلوئیدس سویه IR-1395 به جیوه و رشد آن در مجاورت جیوه بودند و نتایج سیستم طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس نیز جذب زیستی جیوه توسط مخمر را تأیید کردند.



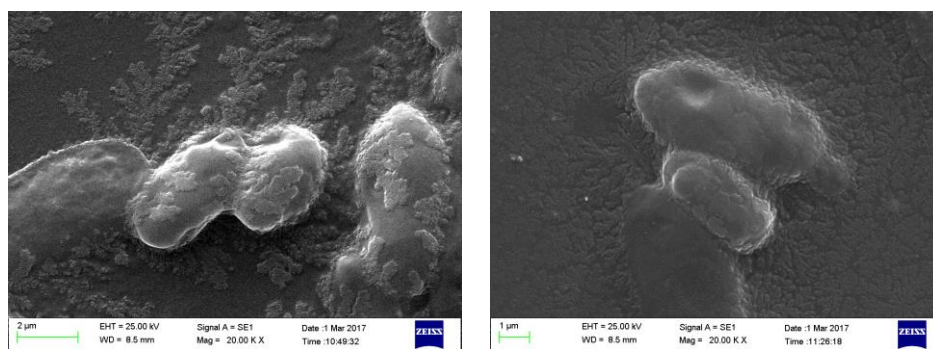
شکل ۹- میزان جذب زیستی جیوه توسط زیست توده غیرفعال شده به روش اتوکلاو و ۲ و ۴ دی‌نیتروفل

بررسی جذب زیستی در سلول‌های مخمر تیمارشده:

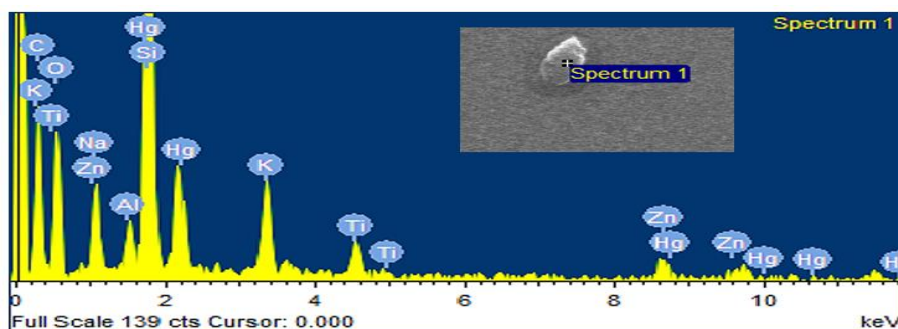
در این آزمایش، مقدار برابری از زیست‌توده با دو روش اتوکلاو کردن و استفاده از ۲ و ۴ دی‌نیتروفل تیمار و توانایی مخمر تیمارشده در جذب زیستی جیوه بررسی شد. نتایج نشان دادند زیست‌توده تیمارشده (شاهد) نسبت به زیست‌توده‌های تیمارشده دارای مقدار جذب زیستی بیشتری است و این مقدار برابر است با ۳/۸ میلی‌گرم در گرم وزن خشک. میزان جیوه جذب شده توسط مخمر تیمارشده با ۲ و ۴ دی‌نیتروفل برابر با ۲/۲۱ میلی‌گرم در گرم وزن خشک و مخمر اتوکلاو شده برابر با ۲/۰۹ میلی‌گرم در گرم وزن خشک بود (شکل ۹).

مطالعه‌های میکروسکوپ الکترونی: پس از رشد در

محیط حاوی جیوه، میکروسکوپ الکترونی نگاره (ZEISS EVO 18 Special Edition) مجهز به سیستم طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس برای بررسی مخمر استفاده شد (شکل‌های ۱۰ و ۱۱). نتایج نشان‌دهنده



شکل ۱۰- تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از مخمر رودوترولا تورلوئیدس سویه IR-1395 رشد یافته در محیط کشت دارای جیوه



شکل ۱۱- نتایج سیستم طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس از سطح مخمر رودوترولا تورلوئیدس سویه IR-1395 در مجاورت جیوه

بحث و نتیجه‌گیری

آلودگی‌های ناشی از فلزات سنگین آثار بی‌شماری بر کیفیت محیط‌زیست، سلامت انسان و موجودات زنده دارند و تهدیدی جدی در نظر گرفته می‌شوند. امروزه، تلاش‌های بسیاری برای کاهش یا حذف این آلودگی‌ها از محیط‌زیست انجام شده‌اند و ناکارآمد بودن اغلب فرایندهای پالایش غیرزیستی نسبت به روش‌های زیستی ثابت شده است. در میان روش‌های زیستی، جذب زیستی پتانسیل خوبی برای جایگزینی روش‌های فیزیکوشیمیایی متعارف حذف و جداسازی فلزات و رنگ‌ها از محلول‌ها دارد (۱۸-۲۰)؛ این روش به علت کم‌هزینه بودن، دردسترس بودن زیست‌توده و بازده زیاد از نظر تجربی و عملی در خور توجه است (۲۱-۲۵).

در پژوهش حاضر، به منظور بررسی میان‌کنش‌های مختلف مخمر رودوترولا تورلوئیدس سویه IR-1395 با جیوه، مخمر در مجاورت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر کلرید جیوه قرار گرفت. نتایج کشت نشان دادند مخمر یادشده قادر به جذب ۶۱/۸۶ درصد جیوه و فرآر سازی ۱۰/۱۷ درصد جیوه از محیط پس از گذشت یک هفته است (شکل ۳). با توجه به مزایای روش جذب زیستی، این روش برای ادامه فرایند انتخاب شد و به منظور بررسی عوامل تأثیرگذار بر جذب زیستی جیوه توسط مخمر، اثر اسیدیته، غلظت‌های مختلف جیوه، غلظت زیست‌توده، زمان مجاور سازی و دما بررسی شد.

از آنجا که اسیدیته یکی از مهم‌ترین شاخص‌های تأثیرگذار بر فرایند جذب زیستی است، ابتدا اثر اسیدیته بر جذب زیستی جیوه توسط مخمر در دامنه ۲ تا ۶ ارزیابی شد. با توجه به شکل ۴، بیشترین جذب در اسیدیته ۴ رخ می‌دهد و برابر با ۳/۰۸ میلی‌گرم در گرم وزن خشک است. پژوهشگران مشخص کرده‌اند در اسیدیته‌های ۲ تا

۴، سطح جاذب با یون هیدرونیوم پوشیده می‌شود و بار کلی سطح جاذب مثبت و سبب کاهش واکنش کاتیون‌ها با محل‌های اتصال می‌شود. هنگامی که اسیدیته از ۳ به ۴ افزایش می‌یابد، مقدار جذب فلز جیوه به وسیله زیست‌توده افزایش می‌یابد؛ با افزایش اسیدیته از ۳ به ۴، غلظت یون‌های هیدرونیوم کاهش و بار منفی سطح سلول افزایش می‌یابد که مساعدکننده کشش الکتروشیمیایی و جذب کاتیون‌هایی مانند یون‌های جیوه است. نتایج نشان دادند کاهش مقدار جذب جیوه به وسیله زیست‌توده در اسیدیته بیش از ۴ رخ می‌دهد؛ کاهش در مقدار جذب فلز جیوه به علت آنیون‌هایی است که در جذب با جیوه رقابت می‌کنند. نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های دیگر پژوهشگران همخوانی دارند (۱۰، ۲۶، ۲۷).

غلظت اولیه فلز یکی از اصلی‌ترین عواملی است که عملکرد جذب را تعیین می‌کند. سایر پژوهشگران نشان داده‌اند جذب زیستی فلزات از محلول‌های آلوده را می‌توان به سطح زیست‌توده موجود برای جذب یون‌های فلزی نسبت داد که در آن، افزایش غلظت فلزات در محلول از حد معینی سبب می‌شود محل‌های اتصال اشباع شوند؛ به منظور بررسی این مطلب، آزمایش‌های جذب جیوه توسط مخمر سویه IR-1395 در محلول‌های فلزی با غلظت‌های اولیه مختلف در دامنه ۵۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر انجام شدند. نتایج نشان دادند غلظت‌های اولیه مختلف جیوه بر جذب زیستی آن توسط مخمر سویه IR-1395 تأثیر می‌گذارند. همان‌طور که در شکل ۵ دیده می‌شود، مقدار جذب فلز جیوه توسط این سویه با افزایش غلظت جیوه افزایش می‌یابد. هنگامی که غلظت اولیه از ۵۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر افزایش می‌یابد، مقدار جذب جیوه نیز از ۳/۳ تا ۶/۳۶ میلی‌گرم در گرم وزن خشک افزایش می‌یابد. نتایج پژوهشگران پیشین نشان داده‌اند

جذب زیستی جیوه ندارد؛ با وجود این، در برخی پژوهش‌ها بیان شده است با افزایش دما، میزان جذب زیستی کاهش می‌یابد و علت آن، تغییر جایگاه اتصال در زیست‌توده است (۱۸، ۳۰، ۳۱). نتایج حاضر با مشاهده‌های دیگر پژوهشگران همخوانی دارند؛ برای نمونه، نتایج پژوهش Saglam و همکاران (۲۰۰۲) نشان داده‌اند ممکن است دامنه دمایی مختلف تأثیر معناداری بر مقادیر فلز جذب شده نداشته باشد که این امر به ماهیت جاذب و مکان‌های فعال در سطح سلول بستگی دارد (۳۲).

در آزمایش پیش‌تیمار زیست‌توده به دو روش اتوکلاو کردن و استفاده از ۲ و ۴ دی‌نیتروفلن، نتایج نشان دادند زیست‌توده تیمار شده دارای جذب زیستی کمتری نسبت به زیست‌توده بدون تیمار است. نتایج یادشده نشان دادند مخمر رودوترولا تورلوئیدس سویه IR-1395 دارای جذب جیوه غیروابسته به متابولیسم و جذب جیوه وابسته به متابولیسم است؛ همچنین زیست‌توده پیش‌تیمار شده با ۲ و ۴ دی‌نیتروفلن مقدار جذب بیشتری نسبت به زیست‌توده اتوکلاو شده دارد (شکل ۹) و به نظر می‌رسد کاهش بازده جذب به علت تغییرات رخ داده در محل‌های اتصال فلز و تخریب اجزای سطح سلول مخمر طی اتوکلاو باشد (۳۰).

نتایج پژوهش حاضر نشان دادند مخمر رودوترولا تورلوئیدس سویه IR-1395 پتانسیل خوبی برای جذب زیستی جیوه دارد. جذب زیستی با کاهش هزینه و زمان لازم برای انجام فرایند و همچنین بی‌نیازی به جاذب فعال می‌تواند روش کارآمدی برای زیست‌پالایی جیوه باشد و می‌توان این مخمر جدید را نامزد باارزشی برای کاربردهای زیست‌فناوری جیوه در صنایع مختلف معرفی کرد.

افزایش مقدار جذب فلز جیوه به علت افزایش تعداد یون‌های در حال رقابت برای محل‌های اتصال در دسترس روی زیست‌توده است (۲۸).

غلظت جاذب از عوامل به شدت تأثیرگذار بر جذب است که در آزمایش‌ها باید بررسی شود. به منظور بررسی تأثیر مقدار جاذب بر جذب زیستی، مقادیر مختلف زیست‌توده سویه IR-1395 با محلول جیوه مجاور شد و نتایج نشان دادند افزایش مقدار جاذب سبب کاهش ظرفیت جذب جاذب می‌شود (شکل ۶)؛ درحقیقت، افزایش مقدار جاذب زیستی سبب افزایش سطح جاذب زیستی و متعاقباً افزایش تعداد جایگاه‌های فعال در دسترس برای فرایند جذب زیستی می‌شود؛ به همین علت با افزایش مقدار جاذب، کل مقدار ماده جذب شده (بازده حذف) افزایش می‌یابد، اما به علت کافی نبودن مقدار جیوه حل شده درون محلول برای پوشاندن گروه‌های عاملی سطح جاذب، مقدار ماده جذب شده در یکای جرم جاذب (معادل ظرفیت جذب) کاهش می‌یابد (۲۹).

بررسی میزان جذب زیستی مخمر سویه IR-1395 در زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه نشان داد (شکل ۷) در ۱۰ دقیقه اول، مخمر قادر به بیشترین مقدار جذب جیوه از محیط است و پس از گذشت ۶۰ دقیقه، تغییرات اندکی دارد و سپس ثابت می‌شود. به نظر می‌رسد حذف سریع یون‌های جیوه از دسترس بودن مکان‌های فعال در سطح جاذب برای اتصال سریع با یون‌های جیوه ناشی می‌شود. سایر پژوهشگران در پژوهش‌های خود نشان داده‌اند جذب سریع یون‌های جیوه ممکن است به علت دسترسی آسان به اجزای سطحی سلول مخمر و محل‌های اتصال‌پذیر باشد (۱، ۱۸، ۲۸).

بررسی تأثیر دما بر حذف جیوه در دامنه دمایی ۵ تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد نشان داد دما تأثیر چندانی بر مقدار

References

- (1) Oladipo ME., Adelaja OA. Biosorption of mercury (II) ions, congo red dye and their binary mixture using chemically activated mango leaves powder. *Journal of Environment Protection and Sustainable Development* 2019; 5(3): 107-117.
- (2) Kadirvelu K., Thamaraiselvi K., Namasivayam C. Removal of heavy metals from industrial wastewaters by adsorption onto activated carbon prepared from an agricultural solid waste. *Bioresource Technology* 2001; 76(1): 63-65.
- (3) Williams C., Aderhold D., Edyvean R. Comparison between biosorbents for the removal of metal ions from aqueous solutions. *Water Research* 1998; 32(1): 216-224.
- (4) Çetin K., Türkmen D., Qureshi T., Sağlam N., Denizli A. Phanerochaete chrysosporium loaded cryogel column for biosorption of mercury (II) ions from aqueous solutions. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry* 2016; 44: 77-86.
- (5) Wei Q., Yan J., Chen Y., Zhang L., Wu X., Shang S., et al. Cell surface display of MerR on *Saccharomyces cerevisiae* for biosorption of mercury. *Molecular Biotechnology* 2018; 60(1): 12-20.
- (6) Hadiani MR., Khosravi-Darani K., Rahimifard N., Younesi H. Assessment of mercury biosorption by *Saccharomyces cerevisiae*: Response surface methodology for optimization of low Hg (II) concentrations. *Journal of environmental chemical engineering* 2018; 6(4): 4980-4987.
- (7) Amin F., Talpur FN., Balouch A., Chandio ZA., Surhio MA., Afridi HI. Biosorption of mercury (II) from aqueous solution by fungal biomass *Pleurotus eryngii*: Isotherm, kinetic, and thermodynamic studies. *Environmental Progress & Sustainable Energy* 2016; 35(5): 1274-1282.
- (8) Naja GM., Murphy V., Volesky B. Biosorption, metals. *Encyclopedia of Industrial Biotechnology: Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology* 2009: 1-29.
- (9) Čerňanský S., Urík M., Ševc J., Khun M. Biosorption and biovolatilization of arsenic by heat-resistant fungi (5 pp). *Environmental Science and Pollution Research* 2007; 14(1): 31-35.
- (10) Casagrande GCR., dos Reis C., Arruda R., de Andrade RLT., Battiroldo LD. Bioaccumulation and biosorption of mercury by *Salvinia biloba* raddi (Salviniaceae). *Water, Air, and Soil Pollution* 2018; 229(5): 166.
- (11) Saranya K., Sundaramanickam A., Shekhar S., Swaminathan S. Biosorption of mercury by *Bacillus thuringiensis* (CASKS3) isolated from mangrove sediments of southeast coast India. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences* 2019; 48: 143-150.
- (12) Beni AA., Esmaili A. Biosorption, an efficient method for removing heavy metals from industrial effluents: A review. *Environmental Technology and Innovation* 2020; 17: 100503.
- (13) Irawati W., Wijaya Y., Christian S., Djojo ES. Characterization of heavy metals resistant yeast isolated from activated sludge in Rungkut, Surabaya, Indonesia as biosorbent of mercury, copper, and lead. *AIP Conference Proceedings, Yogyakarta, Indonesia*; 2016.
- (14) Nasr S., Bien S., Soudi MR., Alimadadi N., Fazeli SAS., Damm U. Novel colophorina and coniochaeta species from *Euphorbia polycaulis*, an endemic plant in Iran. *Mycological Progress* 2018; 17(6): 755-771.
- (15) Jeung M-S., Choi H-S. Spectrophotometric determination of trace Hg (II) in cetyltrimethylammonium bromide media. *Bulletin of the Korean Chemical Society* 2004; 25(12): 1877-1880.
- (16) Tاجر-Mohammad-Ghazvini P., Kasra-Kermanshahi R., Nozad-Golikand A.,

- Sadeghizadeh M., Ghorbanzadeh-Mashkani S., Dabbagh R. Cobalt separation by Alphaproteobacterium MTB-KTN90: magnetotactic bacteria in bioremediation. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 2016; 39(12): 1899-1911.
- (17) Piroeva I., Atanassova-Vladimirova S., Dimowa L., Sbirikova H., Radoslavov G., Hristov P., et al. A simple and rapid scanning electron microscope preparative technique for observation of biological samples: application on bacteria and DNA samples. *Bulgarian Chemical Communications* 2013; 45(4): 510-515.
- (18) Vijayaraghavan K., Yun Y-S. Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnology Advances* 2008; 26(3): 266-291.
- (19) Aswathanarayana U. *Water resources management and the environment*. AA Balkema Publisher. The Netherlands: Taylor and Francis, CRC Press; 2001.
- (20) Wu TY., Guo N., Teh CY., Hay JXW. *Advances in ultrasound technology for environmental remediation*. The Netherlands: Springer Science and Business Media; 2012.
- (21) Hlihor R-M., Apostol L-C., Gavrilescu M. Environmental bioremediation by biosorption and bioaccumulation: Principles and applications. *Enhancing Cleanup of Environmental Pollutants* 2017 289-315.
- (22) Hansda A., Kumar V. A comparative review towards potential of microbial cells for heavy metal removal with emphasis on biosorption and bioaccumulation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2016; 32(10): 170.
- (23) Sharma SK. *Bioremediation: A sustainable approach to preserving earth's Water*. Boca Raton, Florida, USA: Taylor and Francis,
- (24) Ismail I., Moustafa T. Biosorption of heavy metals. *Heavy Metals*; 2016: 131.
- (25) Oyewole OA., Adamu BB., Oladoja EO., Balogun AN., Okunlola BM., Odiniya EE. A review on heavy metals biosorption in the environment. *Brazilian Journal of Biological Sciences* 2018; 5(10): 225-236.
- (26) Rengaraj S., Moon S-H. Kinetics of adsorption of Co (II) removal from water and wastewater by ion exchange resins. *Water Research* 2002; 36(7): 1783-1793.
- (27) Ghorbanzadeh Mashkani S., Tajer Mohammad Ghazvini P. Biotechnological potential of *Azolla filiculoides* for biosorption of Cs and Sr: Application of micro-PIXE for measurement of biosorption. *Bioresource Technology* 2009; 100(6): 1915-1921.
- (28) Malekzadeh F., Mashkani SG., Ghafourian H., Soudi MR. Biosorption of tungstate by a *Bacillus* sp. isolated from Anzali lagoon. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2007; 23(7): 905-910.
- (29) Eivazi E. Application of *Pseudomonas putida* bacterium for Te separation from aqueous solutions [Dissertation] Tehran: Univesity of Tehran; 2019.
- (30) Suhasini I., Sriram G., Asolekar S., Sureshkumar G. Biosorptive removal and recovery of cobalt from aqueous systems. *Process Biochemistry* 1999; 34(3): 239-247.
- (31) Mameri N., Boudries N., Addour L., Belhocine D., Lounici H., Grib H., et al. Batch zinc biosorption by a bacterial nonliving *Streptomyces rimosus* biomass. *Water Research* 1999; 33(6): 1347-1354.
- (32) Saglam A., Yalcinkaya Y., Denizli A., Arica M., Genc Ö., Bektas S. Biosorption of mercury by carboxymethylcellulose and immobilized *Phanerochaete chrysosporium*. *Microchemical Journal* 2002; 71(1): 73-81.

¹- Bioremediation²- Biosorption³- Bioaccumulation⁴- Volatilization⁵- *Rhodotorula toruloides* strain IR-1395⁶- National Center for Biotechnology Information⁷- Scanning Electron Microscopy (SEM)