



A STUDY TO LOOK INTO THE POTENTIAL OF *PISTIA STRATIOTES* IN REMOVING HEAVY METALS FROM SIMULATED WASTEWATER

PROJECT LEADER : ASSOC. PROF. DR. PIAKONG MOHD TUAH

CO-RESEARCHERS: ASSOC. PROF. DR. ZAHARAH IBRAHIM

: NUR ZAIDA BT ZAHARI

SCHOOL : SCHOOL OF SCIENCE & TECHNOLOGY,

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

EMAIL: pmdtuah@ums.edu.my

: zda.zarie@gmail.com

CODE FRGS : FRGS0195-SG-1/2010



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

ABSTRACT

INOCULATION EFFECT OF Pb-TOLERANT *BACILLUS CEREUS* NMeHI-Cr2 ON THE REMOVAL OF Pb²⁺ FROM SIMULATED WASTEWATER BY *PISTIA STRATIOTES*

Contamination of heavy metals in the environment is a major concern as it cannot be degraded chemically or biologically. Phytoremediation technology is an easy and economic solution to remediate heavy metals pollution. Study was carried out to determine the inoculation effect of Pb²⁺ tolerant strain on the removal of Pb²⁺ from simulated wastewater by floating aquatic macrophyte *Pistia stratiotes* which was chosen as it is abundant locally with a net-like roots structure. The removal of heavy metals Pb²⁺, Cd²⁺, Ni²⁺ and Zn²⁺ was done in Continuous Vertical Inlet Flow (CVIF) reactor which provided adequate aeration to support roots system and enabled continuous removal process through filtration in the duration of 15 days. This macrophyte can survive in multiple heavy metals mixtures of Cd²⁺, Pb²⁺, Ni²⁺ and Zn²⁺ at 1.5 mg l⁻¹ of each metal for 5 days without nutrients, 8 days in 1-fold nutrients addition and 12 days in 2-fold nutrients addition. However, only Pb²⁺ was found to be removed 100 % from simulated wastewater and absorbed by *P. stratiotes* compared to Cd²⁺, Ni²⁺ and Zn²⁺. Therefore, further analysis on heavy metal removal by *P. stratiotes* was continued by focusing on Pb²⁺ alone which the plant was able to survive up to 2.5 mg l⁻¹. In microbiological study, eight strains were isolated from acid mine drainage and rhizospheric samples taken at Ex-Mamut Copper Mine, Ranau via direct and enrichment technique on nutrient and Ramsay agar. Six strains were Gram positive rods, one was Gram negative rod and one was Gram positive cocci. These strains were tolerant towards Pb²⁺ up to 100 mg l⁻¹ in Pb²⁺-modified broth. Strain NMeHI-Cr2 was found to be the most resistant strain at 100 mg l⁻¹ with the population of 8.94 x 10⁵ CFU ml⁻¹. Pb²⁺ removal capacities (RC) of these strains however showed a different result where the highest Pb²⁺ RC was shown by strain NMeHI-Cr2 (12.48 mg g⁻¹) followed by NMeHI-Cr1 and NMeS2-W1 with 10.15 and 8.80 mg g⁻¹ respectively. Strain NMeHI-Cr2 was identified as *Bacillus cereus* through molecular analysis. Inoculation of *B. cereus* onto the roots of *P. stratiotes* had increased the phytoremediation efficiencies of the plants. This was shown by the complete removal of Pb²⁺ from the simulated wastewater.

ABSTRAK

*Pencemaran logam berat di persekitaran adalah membimbangkan kerana logam berat tidak dapat didegradasi secara kimia mahupun secara biologi. Kaedah fitoremediasi merupakan teknologi yang mudah dan ekonomik untuk diaplikasi dan memulihkan pencemaran logam berat. Kajian dijalankan untuk menyelidik kesan inokulasi bakteria terhadap tumbuhan akuatik *P. stratiotes* dalam proses fitoremediasi untuk menyingkirkan logam-logam berat dari sisa air yang disimulasi dengan menambahkan logam berat ke dalam air tasik UMS. Tumbuhan *P. stratiotes* telah dipilih di dalam kajian ini kerana ia mudah didapati di kawasan tempatan dan mempunyai akar yang panjang dan berstruktur seperti jaring. Kajian penyingkiran logam dilakukan di dalam reaktor CVIF (Continuous Vertical Inlet Reactor) yang membolehkan proses penyingkiran logam dijalankan secara berterusan dan membekalkan oksigen yang secukupnya kepada akar *P. stratiotes*. Makrofit akuatik ini mampu hidup di dalam campuran logam-logam berat plumbum, nikel, kadmium dan zink pada kepekatan 1.5 mg/l¹ setiap logam selama 5 hari tanpa nutrien, 8 hari dengan penambahan larutan sekali ganda nutrien dan 12 hari dengan penambahan 2 kali ganda larutan nutrien. Melalui profil penyerapan logam-logam berat, didapati bahawa logam berat plumbum diserap secara maksimum iaitu 100 % berbanding logam nikel, kadmium dan zink. Oleh itu, logam plumbum dipilih untuk kajian seterusnya dan tumbuhan ini mampu hidup dan menyerap logam plumbum dari sisa air disimulasi sehingga 2.5 mg/l¹. Manakala untuk kajian mikroorganisma, sebanyak lapan strain telah dipencilkan di atas media nutrien dan Ramsay pada suhu 30 °C dari sampel rhizosfera dan sisa air perlombongan yang diambil di bekas lombong Mamut, Ranau, Sabah. Enam strain adalah berciri rod Gram positif, satu rod Gram negatif dan satu cocci Gram positif. Strain-strain ini menunjukkan ciri-ciri toleran terhadap logam plumbum dan mampu hidup di dalam media-plumbum sehingga 100 mg/l¹ di mana strain NMeS2-W2 menunjukkan pertumbuhan tertinggi iaitu sebanyak 8.94×10^5 CFU/ml¹. Dari segi kapasiti penyingkiran (RC) logam plumbum, strain NMeHI-Cr2 menunjukkan nilai yang tertinggi iaitu 12.48 mgg¹ diikuti oleh strain NMeHI-Cr1 dan NMeS2-W1 dengan RC sebanyak 10.15 dan 8.80 mgg¹. Molekular analisis terhadap strain NMeHI-Cr2 telah mengenalpasti strain tersebut sebagai *Bacillus cereus*. *B. cereus* telah berjaya meningkatkan prestasi proses fitoremediasi *P. stratiotes* apabila diinokulasi ke akar-akar tumbuhan akuatik tersebut dengan menyingkirkan logam plumbum 100 % dari air yang tercemar.*

ABSTRAK

*Pencemaran logam berat di persekitaran adalah membimbangkan kerana logam berat tidak dapat didegradasi secara kimia mahupun secara biologi. Kaedah fitoremediasi merupakan teknologi yang mudah dan ekonomik untuk diaplikasi dan memulihkan pencemaran logam berat. Kajian dijalankan untuk menyelidik kesan inokulasi bakteria terhadap tumbuhan akuatik *P. stratiotes* dalam proses fitoremediasi untuk menyingkirkan logam-logam berat dari sisa air yang disimulasi dengan menambahkan logam berat ke dalam air tasik UMS. Tumbuhan *P. stratiotes* telah dipilih di dalam kajian ini kerana ia mudah didapati di kawasan tempatan dan mempunyai akar yang panjang dan berstruktur seperti jaring. Kajian penyingkiran logam dilakukan di dalam reaktor CVIF (Continuous Vertical Inlet Reactor) yang membolehkan proses penyingkiran logam dijalankan secara berterusan dan membekalkan oksigen yang secukupnya kepada akar *P. stratiotes*. Makrofit akuatik ini mampu hidup di dalam campuran logam-logam berat plumbum, nikel, kadmium dan zink pada kepekatan 1.5 mg l^{-1} setiap logam selama 5 hari tanpa nutrien, 8 hari dengan penambahan larutan sekali ganda nutrien dan 12 hari dengan penambahan 2 kali ganda larutan nutrien. Melalui profil penyerapan logam-logam berat, didapati bahawa logam berat plumbum diserap secara maksimum iaitu 100 % berbanding logam nikel, kadmium dan zink. Oleh itu, logam plumbum dipilih untuk kajian seterusnya dan tumbuhan ini mampu hidup dan menyerap logam plumbum dari sisa air disimulasi sehingga 2.5 mg l^{-1} . Manakala untuk kajian mikroorganisma, sebanyak lapan strain telah dipencilkan di atas media nutrien dan Ramsay pada suhu $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ dari sampel rhizosfera dan sisa air perlombongan yang diambil di bekas lombong Mamut, Ranau, Sabah. Enam strain adalah berciri rod Gram positif, satu rod Gram negatif dan satu cocci Gram positif. Strain-strain ini menunjukkan ciri-ciri toleran terhadap logam plumbum dan mampu hidup di dalam media-plumbum sehingga 100 mg l^{-1} di mana strain NMeS2-W2 menunjukkan pertumbuhan tertinggi iaitu sebanyak $8.94 \times 10^6 \text{ CFU/ml}^{-1}$. Dari segi kapasiti penyingkiran (RC) logam plumbum, strain NMeHI-Cr2 menunjukkan nilai yang tertinggi iaitu 12.48 mg g^{-1} diikuti oleh strain NMeHI-Cr1 dan NMeS2-W1 dengan RC sebanyak 10.15 dan 8.80 mg g^{-1} . Molekular analisis terhadap strain NMeHI-Cr2 telah mengenalpasti strain tersebut sebagai *Bacillus cereus*. *B. cereus* telah berjaya meningkatkan prestasi proses fitoremediasi *P. stratiotes* apabila diinokulasi ke akar-akar tumbuhan akuatik tersebut dengan menyingkirkan logam plumbum 100 % dari air yang tercemar.*