



حذف فلز سنگین (مس) با استفاده از ریز جلبک (*Spirulina platensis*) توسط روش تاگوچی

فتانه طالعی بجاربنه^۱، نرگس امراللهی بیوکی^{۱*}، محمد صدیق مرتضوی^۲

^۱گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی و جوی، دانشگاه هرمزگان

^۲پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، بندرعباس

نوع مقاله:

پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۴/۰۲/۰۶

اصلاح: ۹۴/۰۴/۰۴

پذیرش: ۹۴/۰۵/۰۲

کلمات کلیدی:

جلبک سبز آبی

تاگوچی

پساب

جذب زیستی

آلودگی محیط زیست به وسیله فلزات سنگین یکی از مشکلات اساسی زیست محیطی محسوب می‌گردد. حذف زیستی، تکنولوژی نوینی است که بیومس مرده و یا زنده را برای حذف فلزات سنگین به کار می‌گیرد. در این مطالعه، ریزجلبک (سیانوباکتری) *Spirulina platensis* به عنوان جاذب در حذف مس از محلول‌های آبی مورد استفاده قرار گرفت. هدف از تحقیق حاضر، مطالعه امکان یا عدم امکان حذف فلز سنگین مس توسط سیانوباکتری *S. platensis* تحت شرایط محیطی مختلف است. حذف مس توسط زیست توده، تحت شرایط مختلف شامل غلظت‌های مختلف مس (۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ mg/L) pH (۳، ۴، ۵، ۶)، زمان تماس (۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۳۶۰ دقیقه) و غلظت زیست توده غیر زنده (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ g/L) مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت برای افزایش کارایی سیانوباکتری به کمک روش تاگوچی شرایط بهینه جذب مشخص گردید. در فرآیند بهینه‌سازی جذب، بهترین میزان هر یک از پارامترها به ترتیب: pH برابر ۵، میزان وزنی جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس برابر ۰/۵ g/L، غلظت فلز ۲۰۰ mg/L و مدت زمان ۱۲۰ دقیقه بود. نتایج به دست آمده نشان داد که زیست توده *S. Platensis* برای توسعه جاذب‌های اقتصادی و کارآمد جهت حذف فلزات سنگین از محیط آبی مناسب است.

مقدمه

توسعه‌ی روزافزون صنعت اگرچه، دارای مزایای بیشماری است، ولی متأسفانه مشکلات خاصی همچون آلودگی محیط زیست را نیز به دنبال دارد. آلودگی اکوسیستم‌های آبی به فلزات سنگین یکی از مهم‌ترین مباحثی است که در سالهای اخیر به آن توجه ویژه‌ای شده است. به دلیل این‌که، این اکوسیستم‌ها به‌طور طبیعی دریافت‌کننده‌ی نهایی فلزات سنگین هستند، مطالعات متعددی در این زمینه صورت گرفته است (Idris *et al.*, 2007; Kar *et al.*, 2008; Peng *et al.*, 2009). بنابراین، آلودگی فلزات سنگین تهدیدکننده سلامت انسان، منابع طبیعی و اکوسیستم‌ها به شمار می‌رود (Alluri *et al.*, 2007). فلزات سنگین از جمله آلاینده‌های آلی هستند که به دلیل عدم تجزیه و توان تجمع زیستی (Biological accumulation) در موجودات زنده و وارد شدن در زنجیره غذایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (Sari and Tuzen, 2008).

فلز مس در طبیعت به ۴ حالت یافت می‌شود: Cu عنصر مس (فلز جامد)، Cu⁺، Cu²⁺ و به ندرت یون Cu³⁺ (Georgopoulos *et al.*, 2001). استخراج معادن و ذوب مواد معدنی و فلزات، تولید انرژی و سوخت، کود و آفت‌کش‌های صنعتی، آبکاری، الکترولیز، الکترو اسمز، کار چرم، عکاسی، تولید لوازم الکتریکی، رنگ، عملیات چاپ، هوا فضا و نصب و راه

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: Amrollahi@hormozgan.ac.ir

اندازی انرژی اتمی، و غیره منابع اصلی ورود آلاینده فلز مس به محیط می‌باشند (Alluri et al., 2007). مس موجود در محیط باعث ایجاد اختلال در مکانیسم حسگرهای شیمیایی در آبزیان می‌شود. در مطالعاتی مشخص شد غلظت کل مس محلول در آب در محدوده‌ی صفر تا ۲۰ ppb، توانایی حسی و رفتار ماهی را در ماهی قزل‌آلا تحت تأثیر قرار می‌دهد (Sandahl et al., 2007). در غلظت‌های بالاتر، مس باعث آسیب به بافت پوششی اندام‌های حسی می‌شود (Hansen et al., 1999; Bettini et al., 2006).

روش‌هایی که برای جداسازی فلزات سنگین به کار می‌روند مانند ته‌نشینی شیمیایی، جذب، تبادل یونی و استخراج با حلال نه تنها گستره‌ی محدودی دارند؛ بلکه نیاز به سرمایه‌گذاری اولیه و هزینه‌های عملیاتی زیادی داشته و حتی ممکن است باعث تولید پساب‌های ثانویه‌ای گردند که به نوبه خود مشکلات تصفیه‌ای بیشتری را در پی خواهد داشت (Hammaini et al., 2007). چنین مشکلاتی سبب شده تا روش حذف بیولوژیکی به عنوان گزینه‌ای که هم اقتصادی بوده و هم سازگار با محیط زیست است مورد توجه قرار گیرد (Flouty and Estephane, 2012). حذف زیستی^۱ که توسط توده زیستی^۲ صورت می‌گیرد، به دو روش انجام می‌شود. زمانی که فلزات سنگین روی توده زیستی غیرزنده باند شوند، بدون اینکه ضرری برای توده زیستی داشته باشند، جذب زیستی^۳ نامیده می‌شود و زمانی که، حذف فلزات سنگین به صورت تماس طولانی توده زیستی زنده با محلول فلزی باشد، حذف از طریق داخل سلولی صورت می‌گیرد و تجمع زیستی نامیده می‌شود (فولادی و همکاران، ۱۳۸۳).

تعدادی از ریزجلبک‌ها مانند: (*Spirulina sp.*, *Chaetophora*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella fuscas*, *Spirogyra species*) بسیار مناسب بوده، مطالعات گسترده‌ای روی آنها صورت گرفته است (Andrade et al., 2005; Chojnacka et al., 2005; Gupta and Rastogi, 2008; Liping et al., 2007; Vogel et al., 2010; Zbikowski et al., 2007). سیانو باکتری‌ها برخی مزایا را نسبت به سایر میکروارگانیسم‌ها دارند که شامل، حجم لعاب بیشتر آن‌ها به همراه تمایل اتصال بالا، سطح مقطع بزرگ و مواد مغذی مورد نیاز ساده می‌توان به آسانی سیانوباکتری‌ها را در مقیاس بزرگ در آزمایشگاه کشت داد و زیست توده کم هزینه برای فرآیند جذب فراهم کرد (Abdel-Aty et al., 2013).

از سال ۱۹۸۰ روش تاگوچی، در صنایع الکترونیک و مکانیک و اخیراً نیز در مطالعات زیستی کاربردهای فراوانی یافته است و به عنوان یک روش کنترل کیفیت به منظور بهینه سازی فرآیند آزمایش‌های مهندسی، به کار گرفته شده است. هدف از به کارگیری روش تاگوچی در طراحی، تعیین پارامترهای مؤثر در طراحی و مطالعه‌ی میزان تأثیرپذیری فرآیند نسبت به تغییرات این پارامترهاست. با کمک این طراحی تعداد آزمایشات لازم کمتر شده و نتیجه دقیق‌تری به دست می‌آید (بدیعی و همکاران، ۱۳۸۳). روش تاگوچی از ابزار قدرتمند به نام تحلیل واریانس آنووا (ANOVA) نیز برای تحلیل نتایج استفاده می‌کند. مراحل انجام روش تاگوچی شامل انتخاب یک طرح مناسب برای انجام آزمایش‌ها با توجه به تعداد عوامل و سطوح آن‌ها، انجام آزمایش‌ها با توجه به طراحی آزمایش‌های صورت گرفته در مرحله‌ی اول و در مرحله‌ی دوم تجزیه و تحلیل نتایج است (Daneshvar et al., 2007).

در سال‌های اخیر مطالعات زیادی در زمینه حذف زیستی فلزات در سراسر جهان انجام شده است، از جمله: Flouty و Estephane در سال ۲۰۱۲ تجمع و جذب مس و سرب را توسط یک جلبک سبز تک سلولی *Chlamydomonas* را مورد مطالعه قرار دادند. Abdel-Aty و همکاران در سال ۲۰۱۳ میزان جذب کادمیوم و سرب از محلول‌های آبی توسط زیست توده جلبک آب شیرین *Anabaena sphaena* را مقایسه کردند. Khambhaty و همکاران در سال ۲۰۰۹ مطالعه بر روی حذف کروم شش از محلول آبی را با استفاده از سه گونه مختلف زیست توده دریایی اسپریژیلوس مرده انجام دادند. در ایران نیز شاه علیان و همکاران در سال ۱۳۹۲ گونه باکتری مقاوم به نیکل را از رسوبات آلوده خور موسی جداسازی و شناسایی و عملکرد آن را در جذب زیستی نیکل بررسی کردند. همچنین، محب و همکاران در سال ۱۳۹۲ سینتیک و ایزوترم جذب آرسنیک سه ظرفیتی از محلول‌های آبی توسط زیست توده مخمر نان را مورد مطالعه قرار دادند. مشاهده شد که با افزایش pH محلول، کارایی جذب

1. Biological Removal
2. Biological mass
3. Biosorption

آرسنیک کاهش می‌یابد و pH بهینه در حدود پنج می‌باشد. کارایی حذف با افزایش توده مخمر نان تا حدود یک گرم بر لیتر افزایش و با افزایش غلظت اولیه آرسنیک کاهش می‌یابد. هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر پارامترهای مختلف مانند میزان pH اولیه، مقدار فلزی، مقدار جذب، میزان غلظت اولیه فلزات و مدت زمان تماس بر میزان حذف مس توسط سیانوباکتری *S. platensis* می‌باشد.

مواد و روش‌ها

کشت جلبک

استوک فیتوپلانکتون *S. platensis* در سال ۱۳۹۲ از آزمایشگاه کشت جلبک واقع در پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان در بندرعباس تهیه گردید. استوک مورد نظر در شرایط آزمایشگاهی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شده بود. برای کشت ریزجلبک *S. platensis* از محیط کشت f/2 استفاده شد. با توجه به حساسیت کشت جلبک، مراحل کشت باید در شرایط تمیز و ایزوله انجام شود، به این منظور اتاق جداگانه و کاملاً ایزوله جهت کشت جلبک‌ها در نظر گرفته شد. کشت‌های آماده در شدت نور 100 ± 250 لوکس و تحت دوره نوری به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. طول دوره کشت اولیه ریزجلبک ۷ روز به طول انجامید که با رشد ریزجلبک و رسیدن به فاز رشد لگاریتمی، ریزجلبک‌ها به ظرف بزرگ‌تر انتقال داده و محیط کشت تازه به آن‌ها اضافه شد (pena-castro et al., 2004).

آماده سازی جاذب

پس از طی دوره رشد دو هفته‌ای، زیست‌توده جمع‌آوری شد. زیست‌توده‌ی جلبکی برای اجتناب از هرگونه اثر نمک پنج بار با آب مقطر شسته شد و سپس در آون (Dena hot slid) در دمای ۴۰ درجه خشک، آسیاب و از طریق یک الک به اندازه (۲۰۰ میکرون) غربال شد و به عنوان جاذب در مراحل بعدی آزمایش مورد استفاده قرار گرفت (Abdel-Aty et al., 2013).

محلول سازی

برای انجام آزمایش مورد نظر از نمک سولفات مس ۵ آبه (Merck) ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) استفاده شد. استوک یک گرم بر لیتر این محلول فلزی با اضافه کردن نمک سولفات مس در یک لیتر آب مقطر تهیه گردید. غلظت‌های مختلف محلول‌های آزمایش با رقیق سازی مناسبی از محلول استوک اولیه آماده شد.

طراحی آزمایش

طراحی آزمایش‌ها در این پژوهش طبق روش آماری تاگوچی صورت گرفت. به منظور طراحی آزمایش‌ها از نرم افزار Qualitek-4 استفاده شد. چهار فاکتور که در چهار سطح مختلف در فرآیند حذف فلز سنگین مس توسط ریزجلبک *S. platensis* در این پژوهش در نظر گرفته شده‌اند عبارتند از: میزان pH اولیه محلول فلزی (۳، ۴، ۵، ۶)، مقدار وزنی ریزجلبک خشک شده (جاذب) (۲، ۱/۵، ۱، ۰/۵ گرم بر لیتر)، میزان غلظت اولیه فلز (۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر) و مدت زمان تماس (۳۶۰، ۱۲۰، ۶۰، ۳۰ دقیقه). حاصل طراحی آزمایش یک جدول با ۱۶ آزمایش بود (L_{16}) که جزئیات آزمایش‌های آن در جدول (۱) نشان داده شده است.

آزمایش‌های جذب

تمام آزمایش‌های جذب از طریق تماس زیست توده *S. platensis* با یون‌های فلزی در ارلن انجام شد. ابتدا به منظور تنظیم pH محلول‌های فلزی از اسید HNO_3 و باز NaOH استفاده گردید. سپس مقادیر مشخص از جلبک به محلول‌های فلزی با غلظت‌های مشخص اضافه شد. تمامی آزمایش‌ها در دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد و نور ثابت انجام گرفت. مراحل اجرایی کار در ایستگاه تحقیقات نرم‌متان خلیج فارس و دریای عمان در بندرلنگه انجام گرفت.

جدول ۱. آزمایش‌های طراحی شده به روش تاگوچی

ردیف	pH	مقدار جاذب (گرم بر لیتر)	غلظت اولیه فلز (میلی گرم بر لیتر)	مدت زمان تماس (دقیقه)
۱	۳	۰/۵	۱۰	۳۰
۲	۳	۱	۵۰	۶۰
۳	۳	۱/۵	۱۰۰	۱۲۰
۴	۳	۲	۲۰۰	۳۶۰
۵	۴	۰/۵	۱۰	۳۰
۶	۴	۱	۵۰	۶۰
۷	۴	۱/۵	۱۰۰	۱۲۰
۸	۴	۲	۲۰۰	۳۶۰
۹	۵	۰/۵	۱۰	۳۰
۱۰	۵	۱	۵۰	۶۰
۱۱	۵	۱/۵	۱۰۰	۱۲۰
۱۲	۵	۲	۲۰۰	۳۶۰
۱۳	۶	۰/۵	۱۰	۳۰
۱۴	۶	۱	۵۰	۶۰
۱۵	۶	۱/۵	۱۰۰	۱۲۰
۱۶	۶	۲	۲۰۰	۳۶۰

هضم و سنجش

نمونه‌ها در زمان‌های مشخص فیلتر شد. عمل هضم شیمیایی با اسید نیتریک طبق روش Moopam انجام گرفت (Moopam, 1983). میزان فلز مس توسط دستگاه جذب اتمی مدل Thermoelectron corporation (موجود در مرکز سنجش آلودگی و امور آزمایشگاه‌ها و بانک ژن منطقه جنوب کشور در بندرعباس) قرائت شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل نتایج در تمام مراحل با استفاده از نرم افزار Qualitek-4 (win7) انجام گرفت. از تحلیل واریانس آنووا برای تحلیل نتایج استفاده شد. تحلیل واریانس به منظور برآورد واریانس خطا و اهمیت نسبی هر یک از عوامل انجام گرفت.

نتایج

ظرفیت جذب فلز توسط *S. platensis* تحت تأثیر چهار فاکتور میزان pH اولیه، مقدار جاذب، غلظت اولیه فلز و مدت زمان تماس برای نمونه‌های خشک شده و میانگین داده‌ها در جدول (۲) ارائه شده است.

تأثیر pH محیط

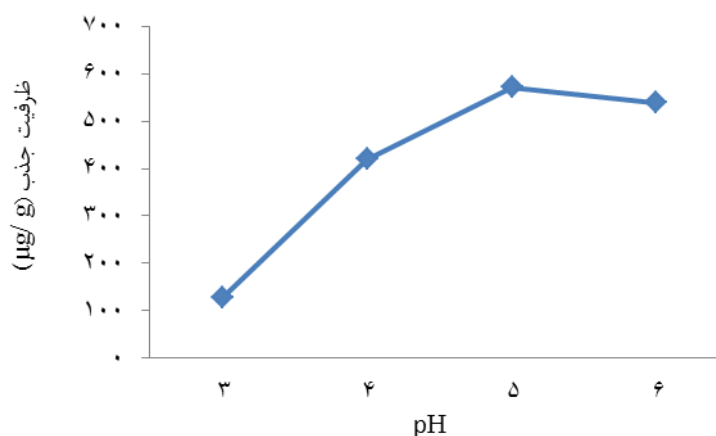
با توجه به شکل (۱) با افزایش pH از ۳ به ۴ میزان فلز جذب شده از ۱۲۷/۳۲۵ میکروگرم بر گرم به ۴۲۲/۷۷۴ میکروگرم بر گرم رسید که به شدت افزایش یافته است. با ادامه افزایش pH از ۴ تا ۵ مجدداً میزان جذب افزایش یافت که به ۵۷۱/۴۶۷ میکروگرم بر گرم رسید و در pH محیط ۶، میزان جذب رو به کاهش رفت که به ۵۳۸/۷۲۷ میکروگرم بر گرم رسید. بنابراین، بهترین حذف فلز سنگین مس توسط ریزجلبک اسپیرولینا در pH برابر ۵ رخ داده است. در pH بالاتر از ۵، رسوب مس نیز مشاهده شد.

تأثیر میزان جاذب

همان طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، بیشترین میزان حذف فلز در کمترین مقدار جاذب رخ داده است، با افزایش مقدار جاذب میزان حذف کاهش یافته است. بیشترین میزان جذب فلز مس ۹۱۸/۳۹۱ میکروگرم بر گرم و کمترین میزان جذب برابر ۱۱۸/۰۰۳ میکروگرم بر گرم بوده است.

جدول ۲. نتایج آزمایش‌های انجام شده توسط جلبک خشک شده و میانگین داده‌ها

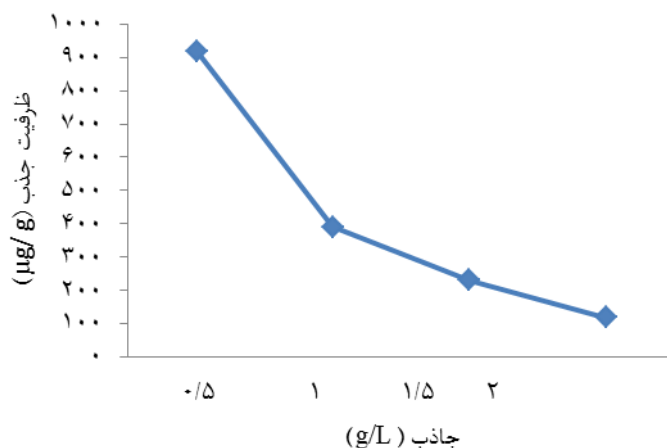
شماره آزمایش	تکرار ۱	تکرار ۲	تکرار ۳	میانگین + (SD)
۱	۷۲/۶	۷۱/۵	۷۵/۴	۷۳/۱۶۶±۲/۰۱
۲	۱۶۷/۶	۱۵۰/۵	۱۸۰/۹	۱۶۶/۳۳۳±۱۵/۲۳
۳	۲۰۴/۸۲	۲۰۸/۵۳	۲۰۰/۶۶	۲۰۴/۶۷±۳/۹۳
۴	۶۰/۱	۶۵/۵	۶۹/۸	۶۵/۱۳۳±۴/۳۶
۵	۱۰۵۰/۲	۹۹۷/۶	۹۱۵/۶	۹۸۷/۸±۶۷/۸۳
۶	۶۰/۹	۶۲/۴	۵۹/۷۸	۶۱/۰۲۶±۱/۳۱
۷	۴۴۴/۲۶	۴۴۰/۷۳	۴۴۶/۷۳	۴۴۳/۹۰۶±۳/۰۱
۸	۱۷۹/۵	۱۸۹/۵	۱۸۴/۶	۱۸۴/۵۳۳±۵/۰۰
۹	۱۳۵۰/۴	۱۳۱۸	۱۳۵۴/۶	۱۳۴۱±۲۰/۰۲
۱۰	۶۸۹/۹	۶۸۳/۹	۶۸۷/۹	۶۸۵/۹±۲
۱۱	۸۰/۶۶	۱۰۲/۲۶	۶۴/۰۶	۸۲/۳۲۶±۱۹/۱۵
۱۲	۲۰۰/۲۳	۱۵۰/۸	۱۷۸/۹	۱۷۶/۶۴۳±۲۴/۷۹
۱۳	۱۲۳۸/۸	۱۳۰۵/۶	۱۲۷۰/۴	۱۲۷۱/۶±۳۳/۴۱
۱۴	۶۵۰/۲	۶۴۹/۳	۶۵۱/۵	۶۵۰/۳۳۳±۱/۱۰
۱۵	۲۰۳/۲۷	۱۹۳/۱۸	۱۶۵/۳۶	۱۸۷/۲۷±۱۹/۶۳
۱۶	۴۲/۰۴	۵۰/۱۲۵	۴۴/۹۵	۴۵/۷۰۵±۴/۰۹



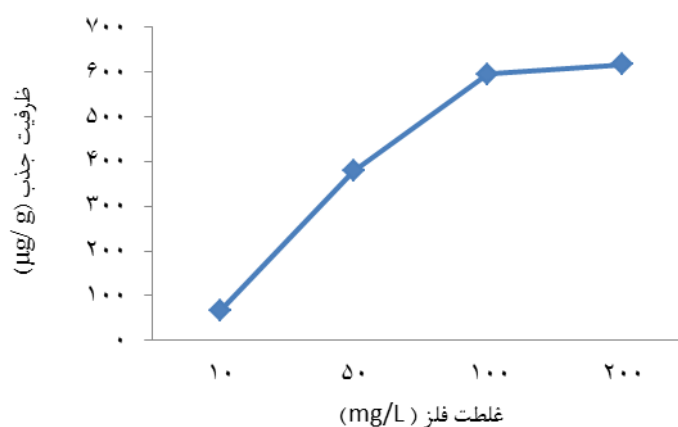
شکل ۱. تأثیر pH بر ظرفیت جذب مس توسط جلبک *S. platensis*

تأثیر غلظت فلز

از دیگر عوامل مؤثر بر حذف فلز، میزان غلظت فلز است. همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود سطح چهارم غلظت فلز مس مورد استفاده در این مطالعه به عنوان بهترین میزان جذب مشخص گردید. با افزایش غلظت فلز از ۱۰ تا ۵۰ میلی گرم بر لیتر در میزان جذب افزایش دیده شد و از ۵۰ تا ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر مجدداً با شیب ملایم‌تری افزایش جذب مشاهده شد. کمترین جذب در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر برابر ۶۵/۵۵۶ میکروگرم بر گرم و بیشترین جذب در غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر، برابر ۶۱۶/۶۳۵ میکروگرم بر گرم محاسبه گردید.



شکل ۲. تأثیر میزان جاذب بر ظرفیت جذب مس توسط جلبک *S. platensis*



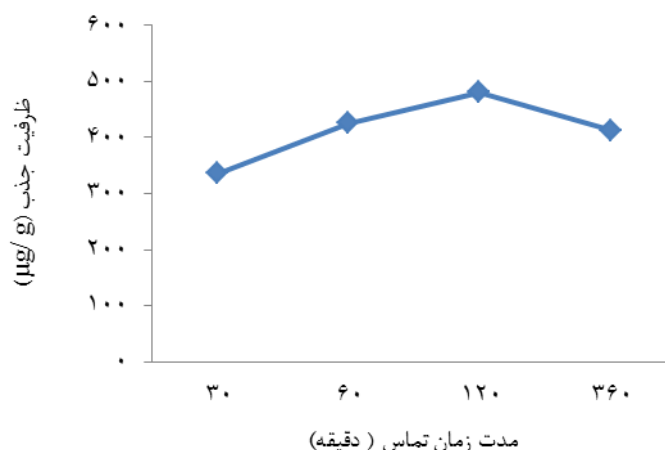
شکل ۳. تأثیر غلظت فلز بر میزان جذب مس توسط جلبک *S. platensis*

تأثیر مدت زمان تماس

با توجه به شکل ۴ با افزایش مدت زمان تماس میزان جذب فلز هم افزایش یافت. بیشترین میزان جذب در مدت زمان ۱۲۰ دقیقه مشاهده شد و بعد از آن تا ۶ ساعت به تدریج میزان جذب کاهش پیدا کرد.

واریانس نتایج

داده‌ها توسط جدول ANOVA آنالیز آماری گردیدند. هدف از آنالیز ANOVA به دست آوردن نسبت واریانس هر فاکتور نسبت به واریانس کل بود (Daneshvar *et al.*, 2007). در جدول ۳ مقادیر ANOVA نمایش داده شده است. در بین پارامترهای آماری مختلف در این جدول، درصد تأثیر هر فاکتور بر پاسخ، مفهوم روشن تری دارد. این پارامتر به کمک سایر پارامترهای آماری در این جدول محاسبه شده است و درصد تأثیر عوامل مختلف بر حذف فلز سنگین مس در محدوده سطوح در نظر گرفته شده را نشان می‌دهد. پارامتر جاذب با 51.03% بیشترین تأثیر را بر میزان حذف فلز مس داشته و بعد از آن به ترتیب میزان غلظت فلز، pH محلول و در آخر، زمان تماس بیشترین تأثیرها را بر میزان جذب داشته اند.



شکل ۴. تأثیر مدت زمان تماس بر جذب مس توسط جلبک *S. platensis*

جدول ۳. آنالیز واریانس (ANOVA)

شماره	فاکتورها	درجه آزادی	مجموع مربعات	واریانس	نسبت F	مجموع مربعات خالص	درصد (%)
۱	pH	۳	۱۴۷۰۷۵۶/۹۵۷	۴۹۰۲۵۲/۳۱۹	۵۲/۸۳۶	۱۴۴۲۹۲۱/۰۵	۱۶/۳۹۵
۲	مقدار جاذب	۳	۴۵۱۸۹۹۷/۵۰۲	۱۵۰۶۳۳۰/۵	۱۶۲/۳۴۳	۴۴۹۱۱۵۵/۵۹۵	۵۱/۰۳
۳	مقدار فلز	۳	۲۳۵۷۶۷۴/۰۷۱	۷۸۵۸۹۱/۳۵۷	۸۴/۶۹۹	۲۳۲۹۸۳۸/۱۶۴	۲۶/۴۷۲
۴	زمان تماس	۳	۱۲۸۶۶۸/۰۰۷	۴۲۸۸۹/۳۳۵	۴/۶۲۲	۱۰۰۸۳۲/۱	۱/۱۴۵
	خطا یا عوامل دیگر	۳۵	۳۲۴۷۵۲/۲۴۲	۹۲۷۸/۶۳۵			۶
	جمع	۴۷	۸۸۰۰۸۴۲/۷۸۱				۱۰۰/۰۰٪

شرایط بهینه نسبی

با توجه به تأثیر عوامل و نتایج جدول ANOVA می توان شرایط بهینه نسبی برای رسیدن به حداکثر میزان حذف فلز مس توسط جلبک *S. platensis* را نسبت به چهار سطح هر عامل به دست آورد. جدول ۴ شرایط بهینه نسبی تعیین شده در روش تاگوچی را نشان می دهد. به این ترتیب شرایط بهینه در مطالعه به صورت زیر به دست آمد. pH برابر ۵، بهترین میزان جاذب ۰/۵ گرم در لیتر، بهترین غلظت فلز ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر و بهترین مدت زما ت تماس ۱۲۰ دقیقه در نظر گرفته شد. در صورت اعمال شرایط بهینه مقدار پاسخ تبدیل یافته نسبت به مقدار متوسط پاسخ های فعلی بهبود خواهد یافت در نتیجه پاسخی معادل با ۱۳۴۴/۸۹۱ را به دست خواهد داد. جهت بررسی تطابق نتایج پیش بینی شده، آزمایش تأییدکننده تحت شرایط بهینه شده انجام شد و نتیجه حاصل برابر ۱۳۱۴/۲۵۶ محاسبه گردید.

جدول ۴. شرایط بهینه برای دستیابی به حداکثر جذب فلز مس توسط *S. platensis*

عوامل	مقدار بهینه	میزان پاسخ
pH	۵	۱۵۷/۲۶
مقدار جاذب (گرم بر لیتر)	۰/۵	۵۰۴/۱۸۴
مقدار فلز (میلی گرم بر لیتر)	۲۰۰	۲۰۲/۴۲۷
زمان تماس (دقیقه)	۱۲۰	۶۶/۸۱۱
سهم کل عوامل در بهبود پاسخ		۹۳۰/۶۸۴
متوسط پاسخ های فعلی در آزمایش های انجام شده		۴۱۴/۲۰۷
پاسخ پیش بینی شده در شرایط بهینه		۱۳۴۴/۸۹۱

بحث

pH مهم‌ترین پارامتر در فرآیندهای جذب می‌باشد. در بررسی‌های مختلف مشخص شده است که جذب فلز تقریباً در تمام زیست توده‌ها، از جمله باکتری‌ها، سیانوباکتری‌ها، جلبک‌ها و قارچ به میزان pH وابسته می‌باشد. رقابت بین کاتیون و پروتون برای اشغال محل‌های اتصال نشان می‌دهد که اغلب جذب فلزات مانند مس، کادمیوم، نیکل، کبالت و روی در pH پایین کاهش می‌یابد (Deng and Wang, 2012). در محلول با pH کمتر از ۲ یون‌های فلزی بسیار کمی توسط جاذب حذف می‌شوند.

با افزایش pH از ۳ به ۵ حذف فلز نیز افزایش می‌یابد. با افزایش بیشتر در مقدار pH، ظرفیت جذب کاهش خواهد یافت (Abbas et al., 2014).

در این پژوهش حذف فلز مس با استفاده از ریزجلبک *S. platensis* تحت تأثیر پارامترهای مختلف مورد سنجش قرار گرفت و شرایط بهینه نسبی نیز مشخص گردید. اولین پارامتر مورد بررسی میزان pH بود که افزایش pH از ۳ تا ۵ نشان داد که میزان جذب فلز یا به عبارتی حذف زیستی فلز از محلول تیمار افزایش یافت و در ادامه با افزایش pH روند جذب دچار کاهش شد. بنابراین، کمترین میزان جذب برابر ۱۲۷/۳۲۵ میکروگرم بر گرم در pH برابر ۳ و همچنین بیشترین میزان جذب در pH برابر ۵، ۵۷۱/۴۶۷ میکروگرم بر گرم تعیین گردید.

pH محلول، حلالیت یون‌های فلزی و یونیزاسیون گروه‌های عاملی واقع در دیواره سلولی جاذب زیستی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. هر دو عامل، سایت‌های اتصال فلز در سطح سلول و در دسترس بودن فلز در محلول، تحت تأثیر pH قرار دارد. در pH پایین، سایت‌های سطح سلول به یون‌های H^+ متصل‌اند، همچنین در pH پایین (PH برابر ۲ و کمتر) به علت افزایش دانسیته بار مثبت در مکان‌های اتصال، میزان دسترسی یون‌های فلزی به این مکان‌ها کاهش می‌یابد. (Gong et al., 2005; Ray et al., 2005). با افزایش pH، لیگاندهای بیشتری، مانند گروه کربوکسیل و یا سایر گروه‌های عاملی موجود در دیواره سلول‌های جلبک در دسترس فلزات قرار می‌گیرد و در نتیجه، بار منفی ایجاد شده و جاذبه بین بار منفی و فلزات، جذب را بر روی سطح سلول افزایش می‌دهد. در مقادیر pH بالاتر از ۳، سلول‌های جلبکی دارای بار منفی می‌شوند، بنابراین، جاذبه الکترواستاتیک بین یون‌های مس و بار منفی سطح سلول جلبک اتفاق می‌افتد که باعث افزایش جذب در pH بالاتر از ۳ می‌شود (Aksu, 2001; Crist et al., 1981).

غلظت زیست توده در محلول بر میزان جذب تأثیر می‌گذارد. جذب یون‌های فلز توسط زیست توده در غلظت کم نسبت به غلظت بالا بیشتر است (Modak and Natarajan, 1995). بنابراین، تعامل الکترواستاتیک بین سلول نقش مهمی در جذب فلز دارد. در غلظت پایین‌تر زیست توده، جذب فلزات افزایش می‌یابد، در واقع افزایش غلظت جاذب منجر به تداخل بین سایت اتصال می‌شود (Malkoc and Nuhoglu, 2005). غلظت زیست توده دسترسی یون‌های فلزی به محل‌های اتصال را محدود می‌سازد (Fourest and Roux, 1992).

طبق نتایج به دست آمده، تأثیر میزان جاذب در مطالعه حاضر، کمترین میزان جاذب ۰/۵ گرم بر لیتر، بیشترین میزان جذب را داشته و با افزایش دوز جاذب میزان جذب کاهش یافته است که با توجه به دلایل ذکر شده در بالا قابل توجیه است.

با افزایش دوز سلول‌های جلبک، جذب مس کاهش می‌یابد. کاهش در جذب فلز با افزایش دوز سلول‌های جلبک به دلایل بسیاری مربوط است، از جمله در دسترس بودن جسم حل شده، تعاملات الکترواستاتیک، تداخل بین سایت‌های اتصال و کاهش مخلوط شدن در تراکم زیست توده بالا. همچنین، دلایل ذکر شده در محدود کردن میزان حذف نقش داشته، در نتیجه، ۱۰٪ حذف صورت نمی‌گیرد. این نشان می‌دهد که در بیشتر طرح‌های اقتصادی برای حذف یون‌های فلزات سنگین می‌توان از مجموعه‌های کوچک از جاذب با مقدار کم به جای یک مجموعه با مقدار بالا استفاده و به اجرا درآورد، که از نظر اقتصادی مقرون به صرفه‌تر نیز می‌باشد. همچنین ممکن است در تراکم‌های بالا از جاذب، به علت آزاد کردن برخی ترکیبات، pH محلول تغییر کرده و در نتیجه باعث تخریب زیست توده شود (Abu AL-Rub et al., 2006).

مقدار فلز جذب شده توسط زیست توده با غلظت اولیه فلزات رابطه مستقیم دارد. بنابراین، جذب فلز با افزایش غلظت اولیه فلز افزایش می‌یابد (Abbas et al., 2014).

در غلظت‌های مختلف فلز مس بر طبق نتایج حاصل از آزمایش با افزایش غلظت فلز مس میزان جذب افزایش یافته است. بیشترین جذب در میزان غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر، برابر ۶۱۶/۶۳۵ میکروگرم بر گرم و همچنین کمترین میزان جذب در کمترین غلظت فلز مس یعنی ۱۰ میلی گرم بر لیتر برابر ۶۵/۵۵۶ میکروگرم بر گرم بوده است.

غلظت اولیه در نیروی محرکه برای غلبه بر مقاومت انتقال جرم یون بین جاذب و فاز مایع نقش دارد. غلظت‌های اولیه بالاتر نیروی محرکه انتقال جرم را افزایش می‌دهد، در نتیجه جذب افزایش می‌یابد. علاوه بر این، افزایش غلظت یون‌های فلزی اولیه، تعداد برخورد بین یون‌های فلزی و جاذب را افزایش می‌دهد که باعث افزایش روند جذب می‌شود (Abu Al-Rub et al., 2004).

آخرین فاکتور که کمترین تأثیر را بر میزان جذب داشته مدت تماس بوده است. با افزایش مدت زمان تماس تا ۱۲۰ دقیقه میزان جذب افزایش یافته و میزان جذب بعد از ۶ ساعت ثابت شد که می‌تواند به علت اشباع مکان‌های اتصال مس باشد. مورد مشابه پژوهش حاضر که توسط Abu AL-Rub و همکاران در سال ۲۰۰۶ صورت گرفته به بررسی جذب مس توسط ریز جلبک *chlorella vulgaris* تحت تأثیر فاکتورهای مختلف pH، دوز جاذب، غلظت فلز و مدت زمان تماس پرداخته است. دیواره سلولی این گونه جلبکی، متخلخل و اجزا تشکیل دهنده آن دارای لیگاندها با گروه‌های مختلف عاملی است و اجازه عبور مولکولهای آزاد و یون‌های محلول در آب را می‌دهد نتیجه تحقیق Abu AL-Rub نشان داده که برای غلظت مس ppm ۱۰۰، رسوب مس در pH ۵/۶ شروع می‌شود که در آن ۹۴/۷٪ مس به فرم یونی وجود دارد (Cu²⁺) و حدود ۵/۳٪ رسوب می‌کند. در pH ۶/۲، تنها ۳۴/۴٪ از مس در شکل یونی وجود دارد. در pH ۵، هیچ رسوب مسی وجود ندارد. در محلول با غلظت مس ۳۰۰ ppm ۹۸/۵٪ مس به شکل یونی خواهد بود. تقریباً هیچ جذبی در pH زیر ۴ حاصل نشد در حالی که در محدوده pH ۴ تا ۵ افزایش شدید در جذب مس مشاهده گردید. همچنین در دوزهای مختلف جلبک، درصد حذف مس با افزایش دوز سلول‌های جلبک افزایش می‌یابد در حالی که با افزایش دوز سلول‌های جلبک جذب مس کاهش می‌یابد. در محدوده ۱-۰/۱ گرم مقدار جاذب بیشترین میزان جذب در ۰/۱ گرم مشاهده شد. تفاوت در جذب مس در زمان تماس با استفاده از محلولهای مس با غلظت‌های مختلف در pH ۵ برابر و ۰/۱ گرم سلول جلبک مورد مطالعه قرار گرفت. در محدوده زمانی ۲ تا ۴۵ دقیقه جذب مس در سلول جلبک سریع بود که در آن حدود ۸۵٪ از یون مس در ۵ دقیقه تماس به سلولهای جلبک متصل شد. در ۱۰ دقیقه میزان جذب به میزان کمی افزایش یافته و پس از آن جذب ثابت شده است. همچنین در محدوده غلظت‌های فلزی ۲۵۰ تا ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر بیشترین جذب در ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر مشاهده شد.

مورد مشابه دیگر توسط Cetinkaya Donmez و همکاران در سال ۱۹۹۹ بر روی جذب مس (II)، نیکل (II) و کروم (VI) از محلولهای آبی توسط جلبک‌های (*Synechocystis SP* و *Chlorella Vulgaris*, *Scenedesmus obliquus*) خشک شده صورت گرفت، نشان داده شده که pH مؤثرترین پارامتر بر فرآیند جذب بوده است. جذب مس (II) با بالا رفتن pH تا ۵، افزایش یافت و با افزایش غلظت فلز از ۲۵ به ۲۵۰ میلی گرم در لیتر، نیز میزان جذب فلز توسط جاذب‌ها افزایش یافت. در میان جلبک‌های مورد نظر بیشترین میزان جذب توسط، *C. vulgaris* حاصل شد. با افزایش مقادیر جاذب ۰/۲۵ به ۲ گرم بر لیتر مقدار جذب افزایش یافت.

منابع

- بدیعی، خ.، یوسفی لیمائی، ن.، تهرانی بقاء، ع.، تنکابنی، ض. ۱۳۸۳. به کارگیری روش طراحی آزمایش تاگوچی جهت بهینه سازی شرایط رنگبری از پساب های نساجی با استفاده از جاذب طبیعی پوست پرتقال. نهمین کنگره ملی مهندسی شیمی ایران. دانشگاه علم و صنعت ایران. ۸-۱.
- شاه علیان، ف.، صفاهیه، ع.، آبیاری، ه. ۱۳۹۲. جداسازی و شناسایی گونه باکتریایی مقاوم به نیکل از رسوبات آلوده خور موسی و مطالعه عملکرد آن در جذب زیستی نیکل. محیط شناسی. سال دوم، شماره ۵، ۱۰۰-۹۳.
- فولادی فرد، ر.، کمائی، ح.، خانفی، م. ۱۳۸۳. حذف فلز سنگین به روش جذب بیولوژیکی از محلول‌های آبی. نهمین کنگره ملی مهندسی شیمی ایران. دانشگاه علم و صنعت ایران. ۱۰-۱.
- محب راد، ب.، علیدادی، ح.، نجف پور، ع.، قانعیان، م.، احرامپوش، م. ۱۳۹۲. مطالعه سینتیک و ایزوترم جذب آرسنیک سه ظرفیتی از محلولهای آبی توسط توده زیستی مخمر نان. شانزدهمین همایش ملی بهداشت محیط ایران. دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تبریز. ۱۰-۱.

- Abbas, S., Ismail, I., Mostafa, T., Sulaymon, A. 2014. Biosorption of Heavy Metals: A Review. *Journal of Chemical Science and Technology*. 4: 74- 102.
- Abdel-Aty, A., Ammar, N., Abdel ghafar, H., Ali, R. 2013. Biosorption of cadmium and lead from aqueous solution by fresh water alga *Anabana sphacrica* biomass. *Journal of Advanced research*. 4: 367-374.
- Abu AL-Rub, F., EL-Naas, M., Benyahia, F., Ashour, I. 2004. Biosorption of nickel on blank alginate beads, free and immobilized algal cells. *Process Biochemistry*. 39:1767-1773.
- Abu Al-Rub, F., EL-Naas, M., A Shour, I., AL-Marzouqi, M. 2006. Biosorption of copper on *Chlorella vulgaris* from single binary and ternary metal aqueous. *Process Biochemistry*. 41: 457-464.
- Aksu, Z. 2001. Equilibrium and kinetic modelling of cadmium (II) biosorption by *C. vulgaris* in a batch system: effect of temperature. *Separation and Purification Technology Journal*. 21: 285-94.
- Alluri, H., Ronda, S., Settalluri, V., Bondili, J., Suryanarayana V., Venkateshwar, P. 2007. Biosorption: an eco-friendly alternative for heavy metal removal. *African Journal of Biotechnology*. 6(25): 2931-2924.
- Andrade, A., Rollemberga, M., Nobrega, J. 2005. Proton and metal binding capacity of the green freshwater alga *Chaetophora elegans*. *Process Biochemistry*. 40: 1931-1936.
- Bettini, S., Ciani, F., Franceschini, V. 2006. Recovery of the olfactory receptor neurons in the African *Tilapia mariae* following exposure to low copper level. *Aquatic Toxicology Journal*. 76: 321-328.
- Cetinkaya Denmez, G., Aksu, Z., Ozturk, A., Kutsal, T. 1999. A comparative study on heavy metal biosorption characteristics of some algae. *Process Biochemistry*. 34: 885-892.
- Chojnacka, K., Chojnacki, A., Gorecka, H. 2005. Biosorption of Cr^{3+} , Cd^{2+} and Cu^{2+} ions by blue-green algae *Spirulina* sp.: kinetics, equilibrium and the mechanism of the process. *Chemosphere*. 59: 75-84.
- Crist, H., Oberholser, K., Shank, N., Nguyen, M. 1981. Nature of bonding between metallic ions and algal cell walls. *Journal of Environmental Science and Health*. 15: 7-12.
- Daneshvar, N., Khataee, A., Rasoulifard, M., Pourhassan, M. 2007. Biodegradation of dye solution containing malachite green by microalgae *Cosmuriium* sp. *Bioresource Technology*. 98: 1-7.
- Deng, X., Wang, P. 2012. Isolation of marine bacteria highly resistant to mercury and their bioaccumulation process. *Bioresource Technology*. 121: 342-347.
- Flouty, R., Estephane, G. 2012. Bioaccumulation and biosorption of copper and lead by unicellular algae *Chlamydomonas reinhardtii* in single and binary metal systems. *Journal of Environmental Management*. 11: 106-114.
- Fourest, E., Roux, J. 1992. Heavy metal biosorption by fungal mycelial by-product, mechanisms and influence of pH. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 37: 399-403.
- Georgopoulos, P., Roy, A., Yonone-Lioy, M., Opiekun, R., Lioy, P. 2001. Copper: environmental dynamics and human exposure issues. *Journal of Toxicology Environmental Health*. 4: 341-394.
- Gong, R., Ding, Y., Liu, H., Chen, Q., Liu, Z. 2005. Lead biosorption by intact and pretreated *Spirulina maxima* biomass. *Chemosphere*. 58: 125-130.
- Gupta, V., Rastogi, A. 2008. Biosorption of lead from aqueous solutions by green algae *Spirogyra* species: kinetics and equilibrium studies. *Journal of Hazardous Materials*. 152: 407-414.
- Hammami, A., Gonzalez, F., Ballester, A., Blazquez, M., Munoz, J. 2007. Biosorption of heavy metals by activated sludge and their desorption characteristics. *Environmental Management*. 84(4): 419-425.
- Hansen, J., Rose, J., Jenkins, R., Gerow, K., Berbmah, H. 1999. Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to copper: neurophysiological and histological effects on the olfactory system. *Environmental Toxicology Chemistry*. 18: 1979-1991.
- Idris, A., Eltayeb, M., Potgieter-Vermaak, S., Van Grieken, R., Potgieter, J. 2007. Assessment of heavy metals pollution in Sudanese harbours along the Red Sea Coast. *Microchemical*. 87: 104-112.
- Kar, D., Sur, P., Mandal, S., Saha, T., Kole, R. 2008. Assessment of heavy metal pollution in surface water. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 5(1): 119-124.
- Khambhaty, Y., Mody, K., Basha, S., Jha, B. 2009. Biosorption of Cr(VI) onto marine *Aspergillus niger*: experimental studies and pseudo-second order kinetics. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 8: 1413-1421.
- Liping, D., Yingying, S., Hua, S., Xinting, W., Xiaobin, Z. 2007. Sorption and desorption of lead (II) from wastewater by green algae *Cladophora fascicularis*. *Journal of Hazardous Materials*. 143: 220-225.

- Modak, J., Natarajan, K. 1995. Biosorption of metals using nonliving biomass-a review. *Minerals and Metallurgical Processing*. 12: 189-196.
- Moopam, 1983. *Manual of Oceanographic Observation and Pollution Analysis*. Regional Organization for the Protection of Marine Environment (ROPME). p. 215.
- Malkoc, E., Nuhoglu, Y. 2005. Investigations of Nickel (II) Removal from Aqueous Solutions Using Tea Factory Waste. *Journal of Hazardous Materials*. 127(1): 120-128.
- Pena-Castro, J., Martinez-Jeronimo, F., Esparza-Garcia, F., Canizares-Villanueva, R. 2004. Heavy metals removal by the microalga *Scenedesmus incrassatulus* in continuous cultures. *Bioresource Technology*. 94: 219-222.
- Peng, J., Song, Y., Yuan, P., Cui, X., Qiu, G. 2009. The remediation of heavy metals contaminated sediment. *Journal of Hazardous Materials*. 161: 633-640.
- Ray, L., Paul, S., Beara, D., Chattopadhyay, P. 2005. Bioaccumulation of Pb(II) from aqueous solutions by *Bacillus cereus* M116. *Journal for Hazardous Substance Research*. 5: 1-21.
- Sandahl, J., Baldwin, D., Jenkins, J., Scholz, N. 2007. A sensory system at the interface between urban stormwater runoff and salmon survival. *Environmental Science & Technology*. 41: 2998-3004.
- Sari, A., Tuzen, M. 2008. Biosorption of Pb(II) and Cd(II) from aqueous solution using green alga (*Ulva lactuca*) biomass. *Journal of Hazardous Materials*. 152: 302-308.
- Vogel, M., Gunther, A., Rossberg, A., Bernhard, G., Raff, J. 2010. Biosorption of U(VI) by the green algae *Chlorella vulgaris* in dependence of pH value and cell activity. *Science of the Total Environment*. 409: 384-395.
- Zbikowski, Z., Szefer, R., Adam, A., Latała, A. 2007. Comparison of green algae *Cladophora sp.* and *Enteromorpha sp.* as potential biomonitors of chemical elements in the southern Baltic. *Science of the Total Environment*. 387: 320-332.