

## پالایش زیستی آلاینده‌های فلزهای سنگین با استفاده از باکتری: بررسی اثر شرایط فرایندی به کمک روش طراحی پاسخ سطح

سمیه محمدیان گزاز<sup>۱\*</sup>، روح‌افزا اکبری<sup>۲</sup>، مونا طاهری<sup>۱</sup> و فاطمه اکبری<sup>۳</sup>

۱- استادیار گروه مهندسی شیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد شیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۳- کارشناسی ارشد شیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

دریافت: مرداد ۱۳۹۶، بازنگری: مهر ۱۳۹۶، پذیرش: آبان ۱۳۹۶

**چکیده:** ورود آلاینده‌های فلزهای سنگین به محیط‌های آبی، به علت سمیت و آسیب‌های زیستی، برای سلامتی انسان مضر است. بنابراین، جذب یون‌های فلزی از محیط، موضوع قابل توجهی است. در این پژوهش، فرایند جذب باکتریایی فلزهای مس و منگنز در شرایط متفاوت (pH، دما و غلظت جاذب) انجام شده است. همچنین، طراحی آزمایش به شیوه روش طراحی پاسخ سطح (RSM) برای بررسی برهم‌کنش بین عامل‌ها، ترسیم نمودارهای صفحه‌ای و به‌دست آوردن معادله ریاضی (مقدار جذب برحسب متغیرها) در قالب مدل چند جمله‌ای استفاده شده است. نتایج نشان داد که با افزایش pH تا ۶ جذب زیستی هر دو یون مس و منگنز افزایش یافته است. افزایش در مقدار جاذب و دما نیز تأثیر مشابهی نشان داد. هرچند که مقدار جذب منگنز با متغیرهای مورد بررسی مقداری بیشتر از مس بود، تغییرهای مشابهی نشان دادند. اثرهای افزایشی مشاهده شده در سطوح پایین متغیرها، کمتر بوده و در سطوح بالاتر قابل توجه شدند. با افزایش دما در هر سطح از جاذب، مقدار جذب بالاتر رفت که این افزایش در pH های بالاتر، بیشتر بود. همچنین، اثر افزایشی عامل pH در غلظت بیشتر باکتری چشمگیرتر بود. تأثیرگذاری هر متغیر، متأثر از دیگری بود. استفاده از روش پاسخ سطح، معادله‌های مقدار جذب هر دو فلز مس و منگنز برحسب عامل‌های ورودی متغیر، با مجذور ضریب تعیین قابل قبول و خطای کم به‌دست آمد. افزون‌بر آن، اثرات برهم‌کنشی متغیرها با توجه به نمودارهای صفحه‌ای و ضرایب معادله‌ها بررسی شدند. در آخر، مقادیر پیش‌بینی شده با این معادله‌ها برای شرایط آزمایشی جدید با مقادیر تجربی مقایسه شد که تطبیق خوبی نشان داد.

**واژه‌های کلیدی:** جذب زیستی، آلاینده‌های شیمیایی، فلزهای سنگین، طراحی آزمایش، جاذب

### مقدمه

در پی دارد [۱]. مهم‌ترین این عناصر شامل سرب، کادمیم، کروم، مس، جیوه، نیکل، روی، وانادیم و منگنز هستند. بیشتر این فلزها در pH پائین، محلول بوده و توانایی دستیابی به اجزای حیاتی موجودات زنده را دارند [۲]. یکی از راه‌های ورود این عناصر به

بشر به شکل‌های متفاوت انواع متنوعی از ترکیب‌ها و مواد شیمیایی مانند انواع فلزهای سنگین را وارد طبیعت می‌کند که هم برای محیط اطراف و هم برای خود، مشکل‌ها و خطرهای جدی

[۱۶]. از موارد جاذب‌های زیستی دیگری که در جذب فلزهای سنگین بررسی شده است، می‌توان به باکتری‌های احیا کننده سولفات [۱۷]، جلبک بی‌هوازی گرانولار [۱۸]، جلبک دریایی<sup>۵</sup> [۱۹]، قارچ آیرپکس لاکتیوس<sup>۶</sup> [۲۰]، جلبک قهوه‌ای فوکوس و سیکولوس<sup>۷</sup> [۲۱]، جلبک سبز تک سلولی کلامیدوموناس<sup>۸</sup> [۲۲] و جلبک آب شیرین آنابنا اسفئنا<sup>۹</sup> [۲۳] اشاره کرد. همچنین، جاذب‌های طبیعی مانند میوه چنار [۲۴]، سبوس گندم و پوست هسته ازگیل ژاپنی [۲۵] نیز در این زمینه بررسی شده‌اند.

با وجود تمام این فعالیت‌ها، استفاده به تنهایی از روش آزمایشگاهی، تأثیر متقابل بین متغیرها را پیش‌بینی نمی‌کند، بلکه کمک گرفتن از روش‌های طراحی آزمایش می‌تواند کمک شایانی در تسهیل بررسی‌ها کند. یکی از روش‌های رایج برای طراحی آزمایش‌ها، روش طراحی پاسخ سطح<sup>۱۰</sup> (RSM) است. روش پاسخ سطح افزون بر روش طراحی آزمایش، شیوه کارآمدی برای کاهش حجم نمونه‌ها و آزمایش‌ها است. همچنین، قادر است نتایج را با ارائه رابطه ریاضی بین متغیرها در شرایط عملیاتی که آزمایش در آن‌ها انجام نشده، پیش‌بینی کند. در این روش هنگامی که چندین فاکتور بر متغیر پاسخ تأثیر داشته باشند، ابزار مؤثری در بررسی فرایند، کاهش تعداد آزمایش‌ها و بررسی روابط متقابل متغیرها است [۲۶]. در پژوهش حاضر، جذب زیستی فلزهای مس و منگنز با باکتری باسیلوس تورجنسیس<sup>۱۱</sup> بررسی شده است و نتایج آن با روش پاسخ سطح تحلیل شده است. در نهایت، همپوشانی نتایج آزمایشگاهی با نتایج حاصل از پیش‌بینی مدل‌ها، مورد مقایسه قرار گرفته و اثر سه عامل فرایندی مهم شامل غلظت جاذب، pH و دمای محیط بر مقدار جذب فلزات سنگین با باکتری گفته شده، بررسی شده است.

### بخش تجربی

#### مواد و فرایند

باکتری باسیلوس تورجنسیس از شرکت فراورده‌های زیستی پردیس رشد مهرگان شیراز، به صورت خشک و جامد تهیه شد.

محیط زیست، پساب فاضلاب تصفیه شده یا تصفیه نشده بعضی صنایع است که با این عناصر کار می‌کنند [۳]. وارد شدن بیش از اندازه فلزهای سنگین سبب ایجاد عوارض و صدماتی جدی در انسان می‌شود. وجود مس در آب آشامیدنی سبب آسیب به سامانه عصبی و همچنین، تنفس ترکیب‌های بخار و یا غبار منگنز، عوارضی مانند ذات‌الریه و عفونت دستگاه تنفسی ایجاد می‌کند [۴ و ۵]. روش‌های متفاوتی برای حذف فلزهای سنگین و خارج کردن آن‌ها از محیط وجود دارد که به طور عمده شامل روش‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی هستند [۶].

در سال‌های اخیر، استفاده از جاذب‌های زیستی به منظور حذف این نوع آلاینده‌ها، مورد توجه دانشمندان قرار گرفته است. فرایند زیستی، نقش بسیار مهمی در حذف یون‌های فلزهای سنگین موجود در آب و خاک دارد. باکتری‌ها، قارچ‌ها، مخمرها و جلبک‌ها از جمله جاذب‌های زیستی مناسبی هستند که برای فرایند جذب زیستی کاربرد دارند [۷ و ۸]. در فرایند جذب زیستی، یون‌های فلزی پیش از دسترسی به غشاء پلاسمایی و سیتوپلاسم باید از دیواره سلولی عبور کنند. همچنین، دیواره سلولی با پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌های متفاوت حاوی جایگاه‌های فعال متنوعی است که توانایی اتصال با یون‌های فلزی و جذب آن‌ها را دارند [۹ و ۱۰]. مزایای جذب زیستی مانند دسترسی مواد، سرعت و کارایی بالا، ویژگی انتخابی در جذب فلزها و بازیافت فلزهای جذب شده، باعث مطلوب شدن این فرایند در حذف فلزهای سنگین شده است [۱۱]. در آزمایش‌های پژوهشگران، باکتری‌هایی مانند پسدوموناس پوتیدا<sup>۱</sup> و پسدوموناس سینجری<sup>۲</sup> بالاترین مقدار جذب فلز مس را نشان دادند [۱۲ تا ۱۴]. در فرایند حذف یون مس از محلول آبی با استفاده از یک نوع مخمر با نام ساکارومیسز سروزیه<sup>۳</sup> مشاهده شد که شرایط محیطی بر فرایند جذب تأثیرگذار است [۱۵]. در جذب زیستی، سه نوع یون فلزی مس (II)، کادمیم (II) و سرب (II) در pH برابر ۶ با استفاده از نوعی قارچ رشته‌ای با نام فانروچات کریسوسپوریوم<sup>۴</sup> مشاهده شد که بیشترین مقدار جذب اتفاق افتاده و پس از گذشت مدت زمان ۶ ساعت، جذب زیستی به تعادل رسید

1. P. putida 2. Pseudomonas syngeri 3. Saccharomyces Cerevisiae 4. Phanruchae crysosporym 5. Lactuca ulva 6. Irepex Lacteous  
7. Focuse viscolius 8. Chlamydomonas 9. Anabaena sphaena 10. Response Surface Methodology 11. Bacillus thuringiensis

سطح‌ها را با اعداد (۱، ۰، -۱) کدبندی می‌کند. همین‌طور، مزیت آن از بین رفتن تأثیرگذاری بزرگی یا کوچکی مقدار عددی اصلی هر متغیر است. در فرایند حذف فلز منیزیم و مس، برای هر متغیر سه سطح با فواصل یکسان در نظر گرفته شد و به‌طور هم‌زمان سه متغیر (مقدار جاذب (باکتری)، دما و pH) بررسی شدند. شرایط فرایندی و سطوح متغیرها در جدول ۱ آمده است. متغیرها و سطوح تعیین شده، در نرم‌افزار تعریف و ۱۵ حالت فرایندی متفاوت برای هر محلول فلزی به‌دست آمد که در جدول ۲ آورده شده‌اند.

جدول ۲ شرایط فرایندی پیشنهادی به‌وسیله طراحی آزمایش

سطوح متغیرها			شماره نمونه
غلظت جاذب (g/l)	T (°C)	pH	
۱	۵۰	۶	۱
۱٫۵	۳۵	۲	۲
۱٫۵	۲۰	۴	۳
۱٫۵	۳۵	۶	۴
۱	۳۵	۴	۵
۰٫۵	۳۵	۲	۶
۱	۳۵	۴	۷
۰٫۵	۵۰	۴	۸
۱	۵۰	۲	۹
۱	۳۵	۴	۱۰
۱٫۵	۵۰	۴	۱۱
۱	۲۰	۶	۱۲
۰٫۵	۲۰	۴	۱۳
۱	۵۰	۲	۱۴
۰٫۵	۳۵	۶	۱۵

جدول ۱ متغیرهای در نظر گرفته شده در آزمایش و سطوح آن‌ها

سطوح متغیرها	pH		دما		مقدار جاذب		دور همزن (rpm)	غلظت اولیه فلز (mg/l)
	اصلی	کد شده	اصلی (°C)	کد شده	اصلی (g/l)	کد شده		
پایین	۲	-۱	۲۰	-۱	۰٫۵	-۱	ثابت ۱۰۰	ثابت
متوسط	۴	۰	۳۵	۰	۱	۰		مس: ۱۰
بالا	۶	۱	۵۰	۱	۱٫۵	۱		منگنز: ۱۰

برای تهیه محلول ۱۰ گرم بر لیتر منگنز سولفات و مس کلرید ، ۱٫۰۲ گرم مس کلرید با درصد خلوص ۹۸ درصد (ساخت شرکت Sigma Aldrich، کشور آمریکا) با آب مقطر در بشر حل‌شده و در بالن ژوژه ۱۰۰ ml به حجم رسید. محلول دوم نیز به همین ترتیب با استفاده از منگنز سولفات (ساخت شرکت Sigma Aldrich، کشور آمریکا) تهیه شد. در ادامه، پس از افزودن جاذب به محلول‌های بالا، مخلوط به‌دست آمده با دور ۱۰۰ دور بر دقیقه، هم‌زده شد. سپس، با کاغذ صافی جداسازی جاذب از محیط انجام شد. در نهایت، غلظت یون‌های باقی‌مانده در هر محلول، با دستگاه جذب اتمی ساخت شرکت GBS، کشور استرالیا، مدل 220 Z Varian، با دقت ۱ ppm اندازه‌گیری شد. مقدار جذب سطحی یون فلزی، از معادله ۱ محاسبه شد.

$$q_e = ((C_0 - C_e) / M) \times v \quad (1)$$

که در آن  $C_0$  و  $C_e$  به ترتیب غلظت اولیه فلز و غلظت تعادل در محلول (غلظت نهایی)،  $M$  جرم جاذب استفاده شده (گرم) و  $v$  حجم محلول (لیتر) است. فرایند، با در نظر گرفتن سه متغیر غیر وابسته شامل pH (۲۰ تا ۶٫۰)، دما (۲۰ تا ۵۰ °C) و مقدار جاذب تجویز شده (۰٫۵ تا ۱٫۵ گرم بر لیتر) انجام شد.

#### طراحی آزمایش

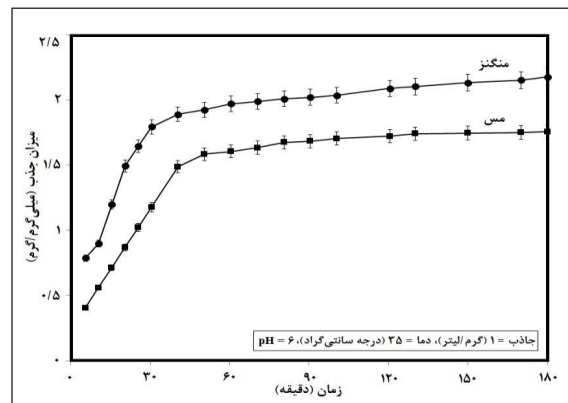
در این پژوهش، طراحی آزمایش از روش پاسخ سطح به روش باکس بنکن، با نرم‌افزار MINITAB V.13.2، انجام شد. متغیرها، به‌صورت مقادیر واقعی برحسب سطوح کد شده معرفی شدند. متغیرهای واقعی، اعداد واقعی متغیرها هستند که در سه سطح پایین، متوسط و بالا قرار داشته و حالت کد شده، همین

شایان ذکر است که برای تطبیق نتایج و رسم نمودارهای تکمیلی، آزمون‌های تکمیلی در تمامی سطوح انجام شد. در ادامه، ابتدا نتایج تجربی در نمودارهای خطی مورد بحث قرار گرفت. سپس، صفحه‌های پاسخ سطح به دست آمده، اثر عوامل و برهم‌کنش متغیرها مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت، معادله‌های به دست آمده با روش طراحی پاسخ سطح، ارائه شده و نتایج به دست آمده از پیش‌بینی این مدل‌ها با داده‌های تجربی در طیف وسیع‌تری (کلید متغیرها در تمامی سطوح آن‌ها) مقایسه و تطبیق آن‌ها بررسی شد.

## نتیجه‌ها و بحث

### تحلیل نتایج با استفاده از داده‌های آزمایشگاهی

در شکل ۱ مقدار تغییرهای جذب منگنز و مس برحسب زمان در شرایط ثابت نشان داده شده است (غلظت جاذب ۱ گرم بر لیتر، دمای ۳۵ °C و pH=۶). همان‌طور که مشاهده می‌شود، با افزایش زمان تا ۴۰ دقیقه مقدار جذب برای هر دو یون فلزی افزایش یافته است. این افزایش به گونه‌ای است که در زمان‌های بالاتر از ۱۲۰ دقیقه، مقدار جذب به مقدار ثابتی رسیده و تغییر چندانی ندارد. در مرحله اصلی پژوهش، در بررسی اثر متغیرها بر مقدار جذب نمونه‌ها در زمان ۱۸۰ دقیقه مقدار جذب ثابت شده است. از این رو، این مدت به عنوان زمان جذب در نظر گرفته شده است.



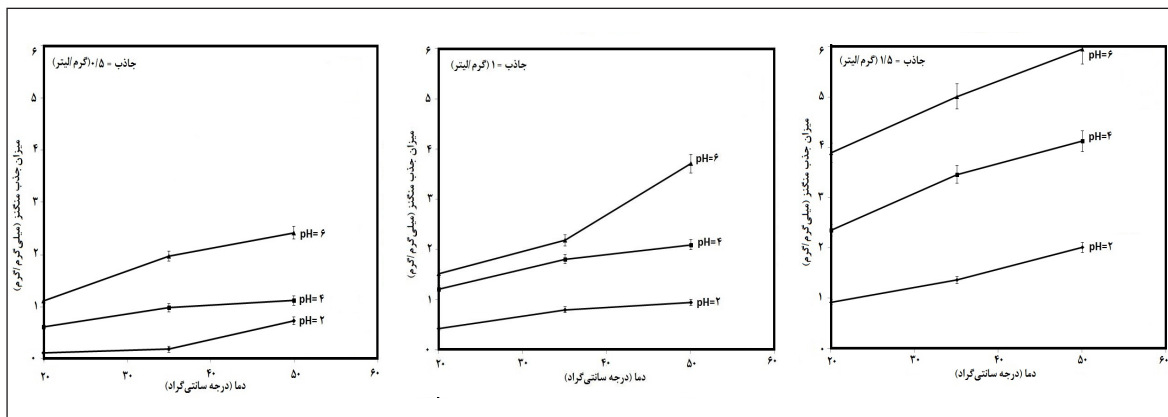
شکل ۱ تغییر مقدار جذب منگنز و مس با زمان در شرایط ثابت

### بررسی مقدار جذب منگنز

برای بررسی مقدار جذب منگنز با باکتری باسیلوس تورنجنسیس به عنوان جاذب زیستی، داده‌های آزمایشگاهی به دست آمده و نمودارهای خطی تغییرهای مقدار جذب این فلز برحسب دما، برای مقادیر متفاوت جاذب و pH در شکل ۲ نشان داده شده است. مقدار جذب فلز منگنز به وسیله باکتری تغییرهای چشمگیری با تغییر در شرایط فرایندی داشته است. در تمام نمودارها، با افزایش دما مقدار جذب افزایش یافته که به احتمال به دلیل جنبش مولکولی بیشتر و تسریع فرایند جذب باکتریایی است. افزون بر آن، اثر تغییرهای pH در هر سه سطح غلظت جاذب در شکل ۲ قابل بررسی است. در مقدار جاذب ۰.۵ g/l و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در pH برابر ۲، مقدار جذب یون منگنز برابر با ۰.۵ mg/g است که با افزایش تدریجی pH از ۲ به ۶، به مقدار ۲.۳۵ mg/g افزایش یافته است. در غلظت جاذب ۱ g/l نیز افزایش pH سبب افزایش مقدار جذب شده، به طوری که بیشترین مقدار جذب به طور تقریبی ۴ mg/g در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و pH برابر ۶ مشاهده شده است. در بالاترین غلظت جاذب، نیز pH اثر افزایشی داشته است. زمانی که قدرت اسیدی محیط کم است، حالت یونی و واکنش‌پذیری گروه‌هایی از قبیل کربوکسیل، فسفات و گروه‌های آمینه با یون فلزی افزایش یافته و به دنبال آن، مقدار جذب یون‌ها با باکتری باسیلوس تورنجنسیس نیز افزایشی بوده است. به همین ترتیب، با افزایش مقدار جاذب اثرگذاری pH بیشتر شده است. همچنین، نمودارها حاکی از آن است که افزایش مقدار جاذب، موجب افزایش چشمگیر جذب است. با تغییر غلظت جاذب از ۰.۵ g/l تا ۱.۵ g/l در بالاترین دما و pH، افزایش مقدار جذب از ۲ به ۶ میلی‌گرم بر گرم به دست آمد.

### بررسی مقدار جذب مس

شکل ۳ مقدار جذب مس را برحسب دما، برای مقادیر متفاوت مقدار جاذب و pH نشان داده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، مقدار جذب مس با جاذب زیستی تغییر قابل توجهی با تغییر در شرایط فرایندی نشان داده است. در تمام نمودارها با افزایش دما،



شکل ۲ مقدار جذب منگنز برحسب دما بر اساس افزایش pH و غلظت جاذب

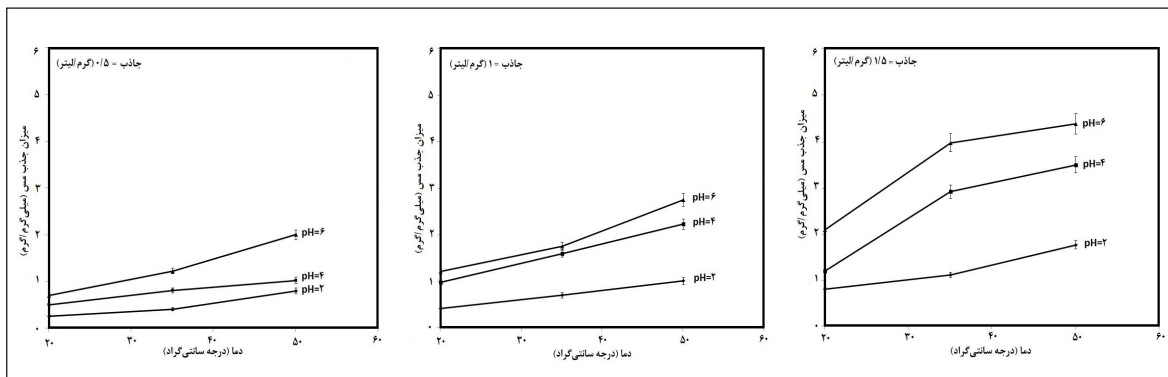
با توجه به تحلیل چگونگی اثر pH و دما در حضور ذره‌های جاذب بیشتر، تغییر عامل‌های گفته شده، اثر پررنگ‌تری دارند.

تحلیل نتایج با استفاده از روش طراحی پاسخ سطح

نمودارهای صفحه‌ای پاسخ سطح

در شکل ۴ نمودارهای صفحه‌ای مربوط به مقدار جذب منگنز با در نظر گرفتن یک متغیر ثابت به ترتیب در سه سطح پایین، میانی و بالا برحسب دو متغیر دیگر، نشان داده شده است. همان‌طور که در تمام منحنی‌ها مشاهده می‌شود، جذب یون منگنز با افزایش غلظت جاذب در محیط افزایش یافته است. طبیعی است که با افزایش غلظت باکتری باسیلوس تورنجنسیس به‌عنوان جاذب، امکان برخورد یون منگنز و به دنبال آن عمل جذب افزایش یافته است. دما نیز اثر افزایشی بر مقدار جذب داشته اما این اثر، وابسته به مقدار جاذب و pH است.

مقدار جذب یون با باکتری افزایش یافته که می‌توان این نتیجه را به بالاتر بودن جنش مولکولی و افزایش تعداد برخورد‌ها نسبت داد. همچنین، افزایش غلظت جاذب نیز موجب بالا رفتن مقدار جاذب در تمام شرایط شده است. تغییرهای pH نیز بر مقدار جذب مؤثر است. به طوری که وقتی مقدار اسیدی بودن محیط کاهش و به حالت خنثی نزدیک شده، تأثیر افزایشی قابل توجهی بر مقدار جذب یون مس با باکتری گذاشته است. علت این امر را می‌توان به ارتباط بار الکتریکی روی جاذب و ماده جذب شده با pH نسبت داد. در pH بالاتر، به دلیل حضور بار منفی خالص روی اجزاء دیواره سلولی و افزایش حالت یونی لیگاندهایی چون کربوکسیل، فسفات و گروه‌های آمینه که با یون فلزی واکنش داده منجر به جذب بیشتر شده است. همچنین، اثر مثبت افزایش دما و pH بر جذب مس در بالاترین سطح جاذب، مشهودتر است. به احتمال،

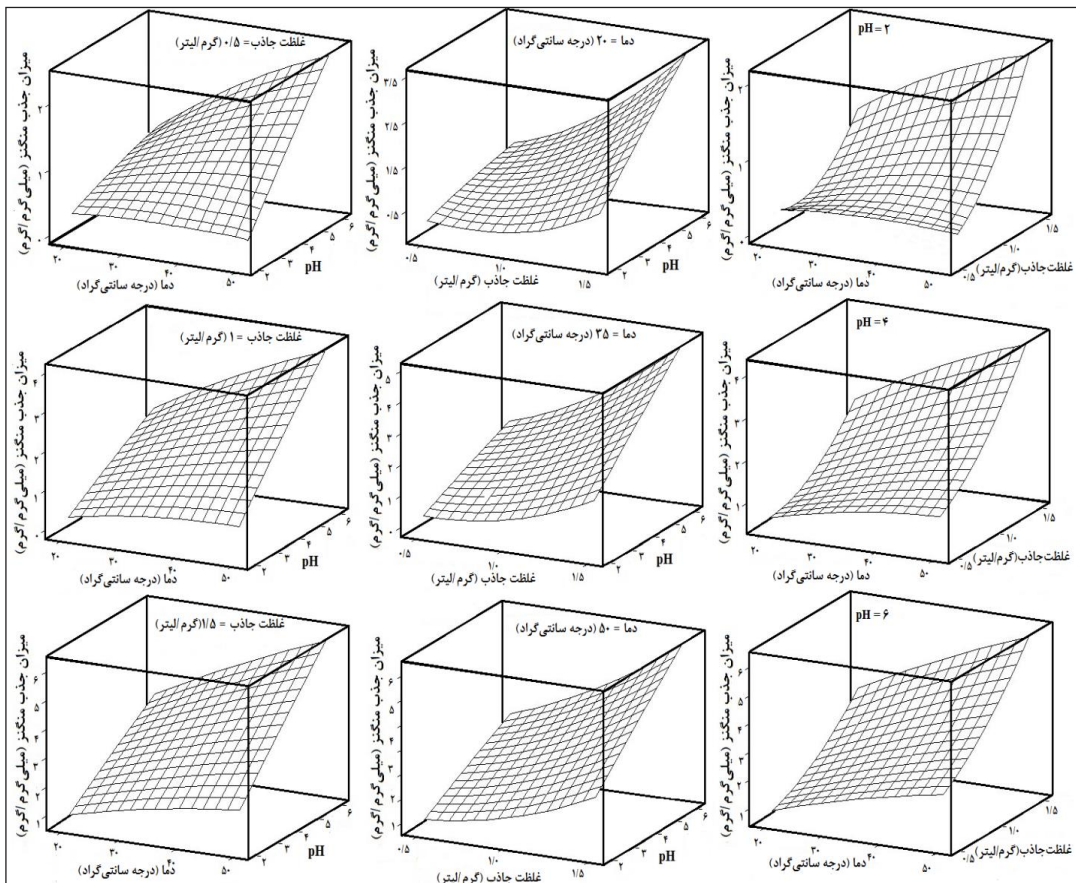


شکل ۳ مقدار جذب مس برحسب دما بر اساس افزایش pH و غلظت جاذب

سطوح باکتری برهم‌کنش‌هایی مشاهده شد. در نمودارها، تأثیر مثبت افزایش pH بر مقدار جذب قابل مشاهده است و در محیط‌هایی که کمتر اسیدی هستند، بیشترین جذب را داریم. در pH پائین، اثر تغییر دما بسیار ناچیز است در حالی که، در pH‌های بالاتر با افزایش دما شیب مثبت قابل توجهی در مقدار جذب مشاهده شده است. افزون بر آن، اثر تغییر pH در دماهای بالاتر نیز قابل توجه است. این موضوع، اثر هم‌افزایی و برهم‌کنش مثبت دما و pH را به خوبی نشان داده است. البته باید به این موضوع نیز اشاره داشت که اثر باکتری که نیز به نوبه خود متأثر از دو عامل دما و pH است، به صورت حالت افزایشی در نمودارها دیده شد. به طوری که با افزایش دما و pH، شیب افزایش جذب با مقدار جذب بالاتر رفته است.

اثر هم‌زمان متغیرها بر مقدار جذب مس در نمودارهای صفحه‌ای

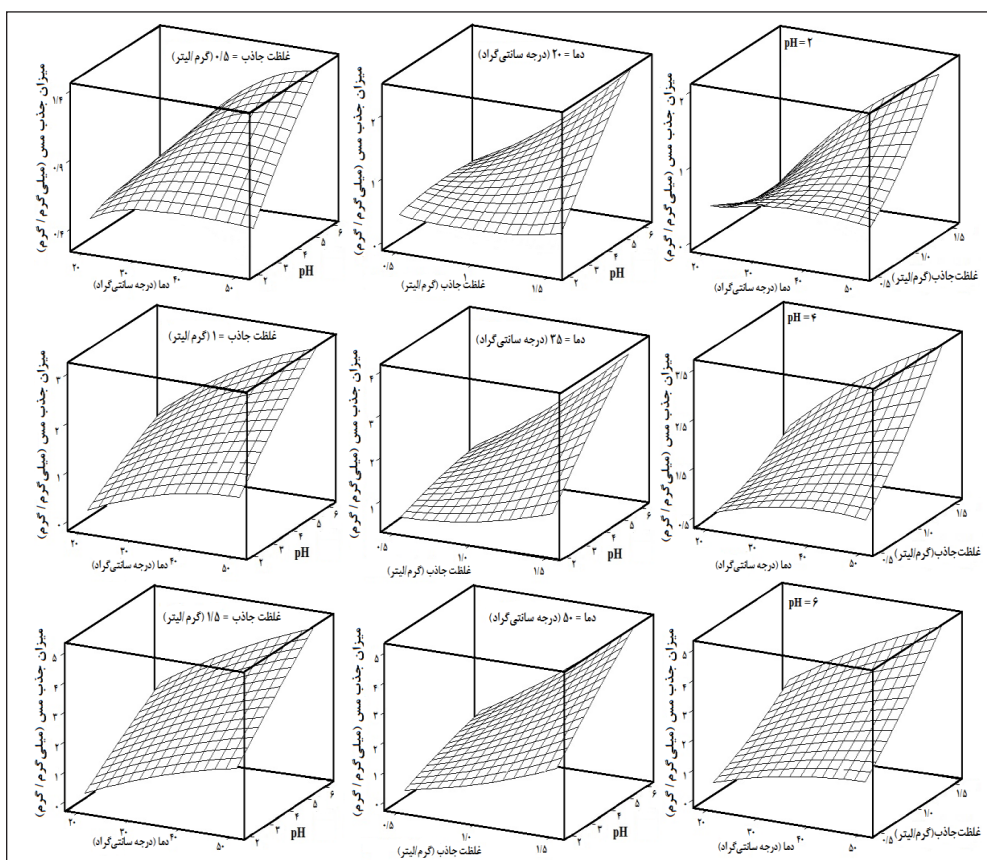
در غلظت جاذب  $0.5 \text{ g/l}$  افزایش دما اثر چندانی بر مقدار جذب ندارد ولی با افزایش غلظت جاذب به  $1$  و  $1.5$  گرم بر لیتر روند افزایشی مقدار جذب منگنز با دما به طور کامل قابل مشاهده است. به طوری که بیشترین جذب در دمای  $50$  درجه سانتی‌گراد و غلظت جاذب  $1.5 \text{ g/l}$  اتفاق افتاده است. مقدار جذب با افزایش pH نیز رابطه مستقیم داشته اما در اینجا غلظت جاذب نیز، تأثیر پیشین خود را داشته و اثر pH بر جذب در غلظت جاذب بیشتر، مثبت‌تر است. همچنین، با افزایش دما و pH به دلیل افزایش جنبش مولکولی، برخورد بیشتر یون منگنز با جاذب و فعال‌تر شدن یون‌ها، مقدار جذب نیز افزایش یافته است. در هر دو حالت، در غلظت بالاتر جاذب، به دلیل وجود ذره‌های بیشتر جاذب، اثرات دما و pH بیشتر شده و روند افزایشی چشمگیرتری به جا می‌گذارند. از سوی دیگر، بین متغیرهای دما و pH نیز در تمام



شکل ۴ نمودارهای صفحه‌ای مقدار جذب منگنز برحسب متغیرهای دما، pH و غلظت جاذب (در هر یک از سری‌های سه‌تایی از نمودارها، یک متغیر ثابت بوده و مقدار جذب برحسب دو متغیر دیگر به صورت صفحه‌ای ترسیم شده است.)

جذب مس با افزایش pH روند افزایشی داشته و نشان دهنده این است که برهم کنش pH و غلظت جاذب در افزایش جذب، مثبت بوده است. همان طور که گفته شد، افزایش دما سبب افزایش جذب مس با جاذب شده و غلظت جاذب بر این عملکرد تأثیر مثبتی داشته که در دماهای بالاتر مشخص تر است. از سوی دیگر، افزایش pH نیز در تأثیر دما بر جذب یون با بکتری برهم کنش مثبتی داشته است. بیشترین جذب در بالاترین دما (۵۰ درجه سانتی گراد)، pH برابر ۶ و غلظت جاذب ۱٫۵ g/l اتفاق افتاده است. با افزایش pH از ۲ به ۴ و سپس ۶ مقدار جذب یون مس در محیط افزایش یافته است. به عبارت دیگر، با کاهش  $H^+$  محیط تمایل جذب یون به وسیله جاذب بالاتر رفته است. دلیل این نتیجه، ارتباط مستقیم بین بار الکتریکی جاذب و یون مربوط است زیرا با افزایش pH، بار منفی دیواره سلولی جاذب افزایش یافته و به دنبال آن عمل جذب نیز امکان پذیرتر شده است.

شکل ۵ ارائه شده است. با افزایش غلظت باکتری مورد بررسی به عنوان جاذب، جذب یون مس افزایش یافته است. همان طور که اشاره شد، با افزایش غلظت جاذب محل های جذب بیشتر شده و در نتیجه یون مس بیشتری جذب شده است. با تغییر دما از ۲۰ تا ۴۰ درجه سانتی گراد و غلظت جاذب برابر ۰٫۵ g/l اثر مناسبی بر جذب نداشته ولی زمانی که غلظت جاذب برابر ۱ و ۱٫۵ گرم بر لیتر است، افزایش در دما اثر قابل توجهی بر افزایش جذب داشته است. از طرف دیگر، مقدار تأثیر گذاری دما وابسته به pH محیط نیز است. به طوری که در pH کمتر تأثیر تغییر دما ناچیز است، ولی با افزایش pH روندی مثبت مشاهده شده است. این تأثیر مثبت، به علت افزایش جنبش مولکولی و افزایش تعداد برخوردهای یون با جاذب و به دنبال آن افزایش مقدار جذب است که در غلظت بیشتر جاذب عملکرد مؤثری داشته است. در شکل ۵ مشخص است که مشابه با منگنز، روند تغییرهای مقدار



شکل ۵ نمودارهای صفحه ای مقدار جذب مس بر حسب متغیرهای دما، pH و غلظت جاذب (در هر یک از سری های سه تایی از نمودارها، یک متغیر ثابت بوده و مقدار جذب بر حسب دو متغیر دیگر به صورت صفحه ای ترسیم شده است.)

## معادله‌ها و ضرایب به‌دست آمده با RSM

یکی از مزایای روش پاسخ سطح، به‌دست آوردن رابطه ریاضی بین پاسخ خروجی (مقدار مس و منگنز جذب شده) و متغیرهاست. با توجه به اینکه سطوح متغیرها اصلی و کد شده هستند، دو گروه ضریب به‌دست می‌آید. ضرایب هر جمله از معادله و علامت آن‌ها، نشان دهنده تأثیر متغیرها بر سامانه است. با توجه به متغیرهای در نظر گرفته شده، معادله حذف فلزهای مس و منگنز به‌صورتی که در جدول ۳ ارائه شده، به‌دست آمده است. شکل کلی معادله در ردیف اول جدول و ضرایب مربوط به هر جمله معادله برای جذب هر فلز، در دو حالت متغیرهای اصلی و کد شده آورده شده است. همان‌طور که می‌دانیم، مقدار مجذور ضریب تعیین  $(R^2)$  بالای ۹۵٪ مناسب است که در این مدل‌ها، مقدار قابل قبول بیش از ۹۸٪ به‌دست آمده است. مقدار خطا هم، بسیار ناچیز و نزدیک به صفر (پنج رقم بعد از اعشار) بوده که نشان‌دهنده درستی معادله‌هاست. برخی از ضرایب خطی مربوط به مقادیر اصلی متغیرها منفی هستند با اینکه عامل مزبور اثر افزایشی بر مقدار جذب داشته است. این موضوع، مربوط به بزرگی این کمیت‌ها است و در برآیند تمام ضرایب‌ها (خطی، درجه دوم و برهم‌کنشی) اثر مثبت را نشان می‌دهند. با اینکه ضریب خطی منفی است، اما از آنجا که در ضرایب کد شده، بزرگی مقدار عددی هر کمیت از بین می‌رود، ضرایب به دست آمده روند منطقی تری دارند. این ضرایب در حالت خطی (درجه اول) علامت مثبت داشته و اثر افزایشی هر عامل را که پیش از این مشاهده شد، به خوبی نشان دادند. ضرایب درجه دوم در هر دو نوع سطوح اصلی و کد شده دارای مقادیر ناچیزی هستند، به جز ضریب مربوط به جاذب که نشان‌دهنده تأثیر بیشتر این عامل است. همچنین، تابعیت درجه دوم مقدار جذب نسبت به دو عامل دیگر (دما و قدرت اسیدی) ناچیز است. همچنین، ضرایب برهم‌کنش‌ها که در مورد عملکرد هم‌افزایی متغیرها بحث و تحلیل شد، همگی در هر دو حالت کد شده و اصلی مثبت هستند. ضریب  $A_7$ ، برهم‌کنش دما و  $A_8$ ، pH، برهم‌کنش غلظت باکتری و pH و ضریب  $A_9$ ، برهم‌کنش دما و باکتری را

نشان می‌دهد. هر سه ضریب، به دلیل اثر مثبت متقابل عامل‌ها، مثبت هستند ولی ضریب  $A_8$  از دوتای دیگر قابل توجه‌تر است که نشان‌دهنده برهم‌کنش قوی بین غلظت باکتری و pH محیط در فرایند جذب فلزهای مس و منگنز است. مقادیر P-value برای حالات خطی، درجه دوم و برهم‌کنشی در جدول آمده است. هرچه مقدار P کمتر و کوچک‌تر از ۰٫۰۵ باشد، به مفهوم پراکندگی و دقت قابل قبول‌تر است. مقدار P برای ضرایب خطی در سطوح اصلی متغیرها بیش از ۰٫۰۵ است که تابعیت درجه اول را در این حالت ضعیف نشان می‌دهد که با توجه به منفی بودن ضرایب، درست است. در مقابل، مقدار P در ضرایب درجه اول کد شده، ۰٫۰۰۰ است که نشان‌دهنده تابعیت منطقی درجه یک است که این موضوع با مقادیر ضرایب نیز که در بالا گفته شد، سازگار است. در حالت درجه دوم، به‌طور کامل تابعیت ضعیف بوده و مقدار P بزرگ‌تر از ۰٫۰۵ شده است. اما در ضرایب برهم‌کنشی متغیرها، مقادیر P برای هر دو فرایند جذب مس و منگنز مقدار مطلوبی بسیار کمتر از ۰٫۰۵ نشان داد که با ضرایب برهم‌کنش مثبت و اثر هم‌افزایی که بحث شد، نیز همخوانی دارد.

## مقایسه نتایج آزمایشگاهی و نتایج پیش‌بینی حاصل از مدل‌ها

در این بخش، با استفاده از معادله‌های به‌دست آمده (جدول ۳) و جای‌گذاری مقادیر جدید متغیرها در آن به یک مقدار عددی مشخص رسیدیم که در واقع مقدار پیش‌بینی با مدل است و امکان مقایسه آن با نتایج آزمایشگاهی در آن شرایط جدید وجود دارد. در اینجا، تعداد داده‌های آزمایشگاهی افزایش داده شده و با استفاده از حالت‌های جدید سطوح متغیرها و جای‌گذاری آن‌ها در معادله‌های مربوط، مقدار جذب دو نوع فلز پیش‌بینی شد. برای بررسی بهتر این مساله، داده‌های مربوط به نتایج آزمایشگاهی در شرایط فرآیندی متفاوت و پیش‌بینی به‌دست آمده از مدل‌ها در شکل ۶ مقایسه شده است. با توجه به نمودار، نتایج روش‌های آزمایشگاهی و مدل‌سازی مربوط به جذب هر دو فلز، بسیار به هم نزدیک است و نقاط نسبت به خط  $(x=y)$  درجه ۴۵ انحراف

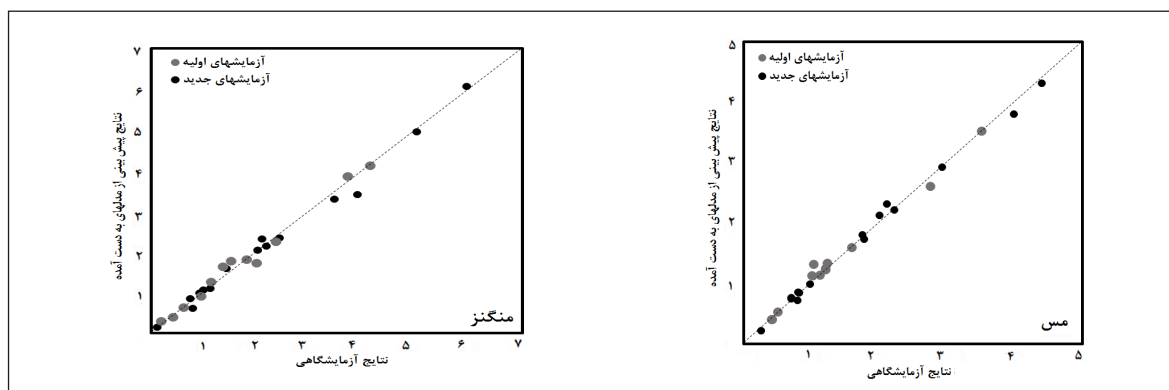


نمودارها)، معادله‌ها توانستند مقدار جذب را بسیار نزدیک به مقدار آزمایشگاهی واقعی پیش‌بینی کنند. به طور کل، با توجه به تطبیق نتایج، ضرایب تعیین و مقدار خطای به دست آمده، می‌توان گفت که شیوه طراحی پاسخ سطح به روش باکس بنکن، نتایج مطلوبی را در فرایند مورد بررسی نشان داده است.

کمی داشته و هم‌پوشانی خوبی مشاهده شد. مطابق با آنچه که انتظار می‌رفت، نمودار تجربی و نمودار پیش‌بینی مدل با همدیگر تطبیق قابل‌قبولی دارند که مقادیر ضریب تعیین بالا و خطای کم معادله‌ها، حاکی از همین موضوع است. برای آزمایش‌های خارج از موردهای طراحی آزمایش (دایره‌های توپور مشکی در

جدول ۳ ضرایب معادله‌های به دست آمده برای مقدار جذب فلزهای مس و منگنز برحسب متغیرهای مورد بررسی  
 (مقدار جذب =  $A_0 + A_1(P) + A_2(T) + A_3(B) + A_4(P^2) + A_5(T^2) + A_6(B^2) + A_7(P \times T) + A_8(P \times B) + A_9(T \times B)$ )  
 ( $0.5 < B < 50$ , دما  $20 < T < 50$  (°C),  $2 < pH < 6$ , P: دامنه متغیرها)

ضرایب معادله	جذب منگنز		جذب مس		
	اصلی	کد شده	اصلی	کد شده	
$A_0$	+۱,۷۵۳۱	+۱,۸۰۳۷	+۱,۵۱۱۰	+۱,۵۹۹۷	
ضرایب خطی درجه اول	$A_1$	-۰,۲۹۶۹	+۱,۱۶۲۳	-۰,۲۷۶۳	+۰,۷۷۷۱
	$A_2$	-۰,۰۱۸۷	+۰,۶۲۵۴	+۰,۰۰۸۲	+۰,۶۱۹۸
	$A_3$	-۴,۰۶۸۸	+۱,۱۱۴۶	-۳,۶۶۹۷	+۰,۸۳۳۴
ضرایب درجه دوم	$A_4$	-۰,۰۰۹۵	-۰,۰۳۸۱	-۰,۰۱۵۵	-۰,۰۶۲۱
	$A_5$	-۰,۰۰۰۵	-۰,۱۱۹۸	-۰,۰۰۰۸	-۰,۱۸۶۳
	$A_6$	+۱,۴۸۲۰	+۰,۳۷۰۷	+۰,۶۱۱۶	+۰,۱۵۲۹
ضرایب برهم‌کنش	$A_7$	+۰,۰۱۳۹	+۰,۴۱۸۳	+۰,۰۰۷۹	+۰,۲۳۹۲
	$A_8$	+۰,۴۶۶۰	+۰,۴۶۶۳	+۰,۵۱۰۰	+۰,۵۱۰۰
	$A_9$	+۰,۰۴۱۹	+۰,۳۱۴۵	+۰,۰۵۹۲	+۰,۴۴۴۳
P-value	خطی	۰,۱۰۸	۰,۰۰۰	۰,۰۸۷	۰,۰۰۰
	درجه دوم	۰,۱۵۴	۰,۱۵۴	۰,۱۶۸	۰,۱۶۸
	برهم‌کنش	۰,۰۱۹	۰,۰۱۹	۰,۰۰۶	۰,۰۰۶
$R^2$ (%)	۹۸,۶		۹۸,۷		
خطا	۰,۰۰۰۰۴۱		۰,۰۰۰۰۴۰		



شکل ۶ مقایسه نتایج داده‌های آزمایشگاهی و نتایج پیش‌بینی مدل برای فرایند جذب منگنز و مس

## نتیجه گیری

بین متغیرها مشاهده و تحلیل شد. همین طور، در سطوح پایین غلظت و pH، اثر افزایشی دما ناچیز بوده ولی در سطوح بالاتر غلظت و pH، دما نقش چشمگیری در افزایش جذب نشان داد. روند افزایشی جذب با pH نیز، در مقادیر بیشتر از جاذب مشخص تر بود. معادله‌ها و ضرایب آن‌ها که تأثیر متغیرها را نشان داد، برای حذف زیستی هر دو یون به‌دست آمد که اعداد به‌دست آمده از آن‌ها به نتایج آزمایشگاهی بسیار نزدیک بود و ضرایب تعیین اعداد بالایی را نشان دادند.

در این پژوهش، حذف زیستی فلزهای سنگین مس و منگنز به‌همراه طراحی آزمایش و تحلیل نتایج به کمک روش طراحی پاسخ سطح انجام شد. افزایش غلظت جاذب، جذب دو یون مس و منگنز را بهبود بخشید و در بالاترین غلظت جاذب بیشترین جذب به‌دست آمد. با افزایش دما جذب هر دو یون بالا رفته و همچنین، افزایش pH تا ۶ بر مقدار جذب زیستی تأثیر مثبت داشت. از طرفی دیگر، برهم‌کنش‌های

## مراجع

- [1]\* کمرئی، بهرام؛ فصلنامه علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی لرستان ۴، [1] ۴۲-۵۱، ۱۳۸۸
- [2]\* اشرفی، فریدون؛ پیک نور علم ۱، ۹۴-۱۰۲، ۱۳۸۷
- [3]\* رجائی، قاسم؛ مجله تحقیقات نظام سلامت ۵، ۷۴۸-۷۵۶، ۱۳۹۱
- [4]\* میران‌زاده، محمدباقر؛ مجله سلامت و بهداشت اردبیل ۲، ۱۴-۱۳۹۰
- [5]\* ستوهیان، فرزاد؛ شریفی، سعید و رنجبران، محسن؛ مجموعه مقالات اولین کنفرانس ملی راهکارهای دستیابی به توسعه پایدار در بخش کشاورزی و منابع طبیعی و محیط زیست، تهران، ۱۳۸۳
- [6] Odum, H.T.; "Heavy Metals in the Environment Using Wetlands for Their Removal", 1st Edition, CRC Press Taylor & Francis Group, USA, 2000.
- [7]\* احمدی‌اسب‌چین، سلمان؛ جعفری، ناصر و پوربایانی، احمدعلی؛ مجله آب و فاضلاب ۲، ۱۰۳-۱۰۹، ۱۳۹۲
- [8] Vijayaraghavan, K.; Yun Y.S.; J. Biotech. Adv. 3, 266-291, 2008.
- [9] Volesky, B.; Holan, Z.R.; Biotechnol. Prog. 11, 235-250, 1995.
- [10] Soltan, E.S.; J. Microbiology and biotechnology 11, 50-55. 2001.
- [11]\* خرم‌آبادی، قدرت‌الله؛ درویشی، رضا و جرفی، سهند؛ مجله آب و فاضلاب ۷۳، ۵۷-۶۲، ۱۳۸۹
- [12] Wood, J.M; Wang, H.K.; "Microbial resistance to heavy metals, in: Environmental inorganic chemistry", VCH Inc, USA, 1985.
- [13] Geesey G.G.; Lang L.; "Interactions between metal ions and Capsular polymers, In: Metal ions and bacteria", John Wiley and Sons, USA, 1989.
- [14] Cooksey, D.A.; and Azad, H.R.; Applied and Environmental Microbiology 1, 274-278. 1992.
- [15] Huang, C.P; Haung-Allen, C.P; Morehart, L.; Water Research 12, 424-433. 1990.
- [16] Say, R.; Denizli, A; and Arica, M.Y.; Bioresour. Technol. 76, 67-76. 2006.
- [17]\* فرازمنند، عباس؛ کاظمی، محمدعلی؛ قیصری، علی؛ ارومیه، حمیدرضا؛ مجله آب و فاضلاب ۳۷، ۱۶-۲۴، ۱۳۸۰
- [18] Alaa, H. H; Catherine, N. M.; Bioresour. Technol. 28, 97-692. 2006.
- [19]\* اسماعیلی، اکبر؛ درویش، مریم؛ ابراهیمی، محمود؛ روستائیان، عبدالحسین؛ نشریه پژوهش‌های کاربردی در شیمی ۵(۱)، ۱۹-۱۵، ۱۳۹۰
- [20]\* عبدالمکی، عزیزه؛ مهران‌پور، کاظم؛ مرادی، رضا؛ نجفی، سعید؛ نشریه پژوهش‌های کاربردی در شیمی ۷(۴)، ۶۲-۵۵، ۱۳۹۲
- [21] Ahmady-Asbchin, S; Bahrami, A.M.; Advances in Environmental Biology 7, 1656-1662. 2011.
- [22] Flouty, R; Estephane, G.; J. Environmental Management 11, 106-114. 2012.
- [23] Abdel-Aty, A.; Ammar, N.; Abdel ghafar, H.; Ali, R.; J. Advanced research in biotech. 4, 367-374. 2013.
- [24]\* خواجه‌کاظمی، رضوان؛ علیزاده، رضا؛ رضایی، محمدرضا؛ نشریه پژوهش‌های کاربردی در شیمی ۷(۱)، ۴۶-۳۹، ۱۳۹۲
- [25]\* تجری، الهه؛ صمدانی لنگرودی، نرگس؛ خلفی، مهناز؛ نشریه پژوهش‌های کاربردی در شیمی ۱۱(۱)، ۵۷-۴۹، ۱۳۹۶
- [26] Montgomery, D.C.; "Design and analysis of experiments", John Wiley & Sons, USA, 2008.

## **Bio-adsorption process of heavy metal contaminants by the bacterium: Study of the effect of various conditions using response surface methodology**

Somayyeh Mohammadian-Gezaz<sup>1,\*</sup>, Roohafza Akbari<sup>2</sup>, Mona Taheri<sup>1</sup>, and Fatemeh Akbari<sup>3</sup>

1. Assistant Prof. of Chemical Engineering, Department of Chemical Engineering,  
Payame Noor University, Tehran, Iran
2. M.Sc. Student (Chemistry), Payame Noor University, Tehran, Iran
3. M.Sc. (Chemistry), Payame Noor University, Shiraz, Iran

Received: July 2017, Revised: September 2017, Accepted: October 2017

**Abstract:** The entrance of heavy metals contaminants into the aqueous environment, due to their toxicity and the biological damages is hazardous for the human health. So the separation of them from the environment is an important subject. In this work, adsorption of heavy metals was investigated using biological method. The process of adsorption of copper and manganese using bacterium were done at different conditions (pH, temperature, and adsorbent concentration). Besides, the experimental design of Response Surface Methodology (RSM) was used to study the interactions between parameters and to draw the surface diagrams, and the estimation of the mathematical equation (absorbance versus variables) as a polynomial model. Results showed that increasing of pH up to 6 increased the bio-sorption of both Mn and Cu. Increment in temperature and adsorbent content had the same effect. Although the absorbance of Mn was a little higher than Cu, both of them showed the same changes with variables. The observed increment effects were lower at lower levels of variables and became more considerable at higher levels of variables. In each level of adsorbent, with increasing of the temperature, absorbance increased which was greater at higher pH. Also, the incremental effect of pH was more remarkable at the higher bacterium concentration. The effect of each variable was influenced by another one. Using RSM, the bio-sorption amounts of both Cu and Mn were formulated versus T, pH, and adsorbent content, with a suitable accuracy and low error. In addition, the interactions between parameters were analyzed considering 3D plots and the coefficients of the achieved equations. Finally, the predicted results from the equations for the new experimental conditions were compared with the the experimental results, which showed a good agreement.

**Keywords:** Bio-sorption, chemical contaminants, Heavy metals, Experimental design, Adsorbent