فصلنامه علمی زیست‌شناسی کاربردی دانشگاه الزهرا(س)
دوره ۳۴، شماره ۴، پیاپی ۷۰، زمستان ۱۴۰۰، ص ۱۴۷-۱۳۳
نوع مقاله: مقاله پژوهشی

The Quarterly Scientific Journal of Applied Biology
Vol.34, No.4, Sering.70, winter 2021, p. 133-147
Article type: Research paper

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۲/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۴/۲۸

وب سایت نشریه: https://jab.alzahra.ac.ir

doi 22051/JAB.2021.34309.1398

مطالعه عوامل مؤثر بر حذف زیستی اورانیوم توسط ریزجلبک زنده *Chlorella vulgaris*

پریسا محمدی[۱]، نورا جوانمردی[۲]، پریسا تاجرمحمدقزوینی[۳]*

چکیده

زیست پالایی توسط ریزجلبکها به عنوان روشی موثر جهت حذف رادیونوکلئیدها از پسابها مطرح است. در این مطالعه زیست پالایی اورانیوم از محلول‌های آبی با استفاده از ریزجلبک *Chlorella vulgaris* در حالت ناپیوسته ارزیابی شد. روش پلاکت برمن توسط نرم افزار آماری Minitab جهت غربالگری عوامل موثر مانند غلظت اولیه اورانیوم، دما، زمان، pH و مقدار زیست توده بر حذف زیستی اورانیوم استفاده شد. نتایج نشان دادند که غلظت اولیه اورانیوم و pH از نظر آماری به عنوان عوامل موثر هستند. جهت تعیین اثرات اصلی و برهم‌کنش عوامل موثر بر حذف اورانیوم از طراحی مرکب مرکزی استفاده شد. پس از آن پردازش داده‌های تجربی و ارزیابی تطابق معادله با داده‌های تجربی انجام و مقادیر شرایط بهینه تعیین شد. نتایج نشان دادند که *C. vulgaris* در شرایط بهینه پیشنهاد شده توسط نرم‌افزار Design-Expert قادر به حذف ۹۹/۶۳ درصد از اورانیوم موجود از محلولهای حاوی ۷/۱ میلی‌گرم برلیتر اورانیوم در pH ۴/۳ است.

واژه های کلیدی: اورانیوم، ریزجلبک، زیست پالایی، طراحی آزمایش، فلزات سنگین

---

۱. دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی دانشگاه الزهرا (س)، تهران- ایران
۲. کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی دانشگاه الزهرا (س)، تهران- ایران
۳. استادیار، پژوهشکده چرخه سوخت هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران- ایران *نویسنده مسئول ptajer@aeoi.org.ir

مقدمه

آلودگی محیط زیست یک مسئله روز جهانی است که به واسطه فعالیت هایی مانند بهره برداری از معادن، توسعه تکنولوژی، صنعتی شدن و شهرنشینی در زیست کره، پیوسته در حال افزایش است. از آنجاکه فلزات سنگین سمیت زیادی دارند، تهدید جدی برای محیط زیست محسوب می شوند. اورانیوم به‌صورت طبیعی و در مقادیر بسیار کم در خاک، سنگ و آب وجود دارد ولی به‌صورت تجاری از کانی‌های معدنی مانند اورانینیت استخراج می‌شود (Aljamali *et al*., 2019). اورانیوم نیز می تواند به صورت ترکیبی با عناصر دیگر وارد چرخه غذایی حیوانات و انسان ها شود (Bem & Bou-Rabee, 2004). امکان جابه جایی اورانیوم در محیط، وابسته به خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک و آب است (Bem & Bou-Rabee, 2004). میزان جابه جایی محصولات اورانیوم به جنس زمین، pH و حضور لیگاندهای کمپلکس ساز در آب‌های سطحی وابسته است (McDiarmid *et al*., 2000).

در سال های اخیر تکنولوژی های متنوعی با هدف حذف یا بازیافت فلزات سنگین و رادیونوکلئیدهای موجود در محیط های آلوده معرفی و توسعه یافته است. اما تکنولوژی های مبتنی بر استفاده از میکروارگانیسم ها و مواد زیستی، در این میان بیشتر مورد توجه قرار گرفته اند (Fu & Wang, 2011; Khan *et al*., 2008). امروزه ثابت شده است که اغلب روش‌های مرسوم غیر زیستی برای پالایش فلزات سنگین کارایی کافی ندارند (Volesky, 1990) و نیاز به مصرف مقادیر زیادی مواد افزودنی و انرژی دارند (Ahalya *et al*., 2003). اغلب روش های مرسوم غیر زیستی به لحاظ مقاومت در برابر تغییرات pH دارای محدودیت هایی هستند (Ahluwalia & Goyal, 2007) و قابلیت انتخابی محدود داشته و ممکن است به صورت غیر انتخابی عمل کنند (Antunes *et al*., 2003; Ahalya *et al*., 2003; Ahluwalia & Goyal, 2007). همچنین روش های مرسوم غیر زیستی پسماندهای فراوانی تولید می‌کنند که نیاز به سرمایه گذاری های کلان دارند و اغلب بازگشت سرمایه از این روش ها طولانی است (Oboh *et al*., 2009). بنابراین دانشمندان امروزه برای یافتن روش‌های خلاقانه، جدید، با صرفه اقتصادی بیشتر و پایدارتر در تیمار منابع آبی و پساب‌ها تلاش می‌کنند. همین امر باعث ایجاد انگیزه برای تولید جاذب های ارزان قیمت شده است (Kumar *et al*., 2015).

تحقیقات نشان داده است که فناوری های زیستی به لحاظ هزینه و کارآمد بودن برای حذف فلزات سنگین حتی از محلولهای بسیار رقیق سودمندتر هستند (Kumar *et al*., 2015). در مجموع سلول های زنده و غیر زنده میکروارگانیسم ها و هم فرآورده‌های مشتق از آنها، می توانند در فرایند زیست پالایی فلزات سنگین مفید باشند (Gadd, 1990). اما هنوز آگاهی کمی درباره میانکنش‌های فلزات و میکروب‌ها و کاربرد آنها وجود دارد و زمان آن فرا رسیده است که این میانکنش ها بیشتر درک شوند.

ایده استفاده از ریزجلبک ها برای زیست پالایی فلزات سنگین اولین بار توسط اوسوالد و گوتز در سال ۱۹۵۷ مطرح شده است که اخیرا توجه زیادی به آن شده است (Doshi *et al*., 2007; Oswald, 1988). امروزه جلبک‌ها به عنوان منابع طبیعی و

تجدید پذیر با زیست توده ای که تمایل های متفاوتی برای انواع فلزات دارند، یک کاندید بسیار مهم به‌عنوان جاذب زیستی مطرح هستند (Doshi *et al*., 2006; Mallick, 2002). تحقیقات نشان داده است که ظرفیت به دام اندازی و اتصال به فلزات توسط جلبک‌های ساکن دریا و همچنین آب شیرین در مورد فلزاتی همچون نقره، طلا و کبالت در مقایسه با کربن فعال، زئولیت های طبیعی (مواد معدنی سیلیکاته آبدار) و رزین های سنتزی تبادل یونی، بالاتر بوده است (Doshi *et al*., 2006). پرالس ولا و همکاران در سال ۲۰۰۶ حذف فلزات سنگینی همچون روی، مس و منگنز را با استفاده از فناوری های وابسته به جلبک ها مانند HRAP (High Rate Algal Ponds) و ATS (Algal Turf Scrubber) با کمک زیست توده‌ی جلبک‌های سبزی همچون *Chlorella, Scenedesmus, Cladophora* و سیانوباکتری‌هایی مانند *Spirulina, Oscillatoria, Anabaena* و یا کنسرسیوم‌هایی از هر دوی آنها را بررسی کردند (Perales-Vela *et al*., 2006). امروزه تحقیقات نشان داده است که ریزجلبک‌های *کلرلا و سندسموس* کاندیداهای خوبی برای حذف فلزات سنگین هستند و می‌توانند پتانسیل زیادی در پاکسازی پساب های آلوده حاوی یون های فلزی داشته باشند (De-Bashan & Bashan, 2010).

معمولا عوامل تاثیر گذار زیادی بر فرآیند زیست پالایی فلزات وجود دارند که مطالعه تمامی این عوامل تاثیر گذار و برهمکنش آنها منجر به صرف زمان و هزینه زیادی می شود. روش سطح پاسخ (Response Surface Methodology) یا به اختصار RSM، یک مجموعه از تکنیک‌های آماری و ریاضیات کاربردی برای ساخت مدل‌های تجربی است. هدف در این گونه تکنیک‌ها، بهینه‌سازی پاسخ (متغیر خروجی) است که متأثر از چندین متغیر مستقل (متغیرهای ورودی) است. یک آزمایش شامل یک سری از آزمون‌هاست که اجرا نامیده می‌شود. در هر آزمایش، تغییرات در متغیرهای ورودی به منظور تعیین علل تغییرات در متغیر پاسخ ایجاد می‌شوند (Ryan & Denton, 1973). در اصل امروزه RSM برای مدل پاسخ‌های تجربی توسعه داده شده است (Box & Draper, 1987). یک تحقیق بر اساس RSM، شامل پنج مرحله طراحی آزمایش‌ها (Experimental Design)، تجزیه و تحلیل داده‌ها (Experimental Analyses)، غربالگری (Screening) و حذف فاکتورهای غیر معنی دار و تجدید مدل ریاضی تا رسیدن به مدل قابل قبول، بهینه سازی (Optimization) و یافتن ناحیه و نقطه بهینه است. در نهایت باید اعتبار سنجی (Validation) یافته ها انجام شود و نقطه بهینه به کمک نرم افزار آماری محاسبه گردد (Fu, 2015).

بنابراین در جهت کاهش هزینه ها، افزایش دقت و صرفه جویی در زمان در این پژوهش، ابتدا از طراحی پلاکت برمن (Plackett-Burman) برای شناسایی مولفه های موٴثر بر زیست پالایی اورانیوم توسط *C. vulgaris* از محلول‌های حاوی اورانیوم استفاده شد. پس از تعیین عوامل موٴثر در زیست پالایی اورانیوم، آزمایش‌های بهینه سازی عوامل موٴثر بر زیست پالایی اورانیوم توسط ریزجلبک منتخب توسط روش سطح پاسخ (RSM) انجام شد.

مواد و روش ها

آماده سازی محلول فلزی اورانیوم

جهت ساخت محلول‌های اورانیوم از نمک اورانیل نیترات هگزاهیدرات $UO_2(NO_3)_2.6H_2O$ استفاده شد. pH هر محلول به وسیله H_2SO_4 یک نرمال تنظیم گردید (Kasra-Kermanshahi *et al*., 2019). برای جلوگیری از اثر تداخلی آلاینده‌ها تمام ظروف بکار رفته با HNO_3 یک نرمال و آب مقطر شسته شدند (Li *et al*., 2014). کار در کلیه موارد آزمایشگاهی با رعایت اصول ایمنی و در آزمایشگاه ویژه مواد رادیواکتیو پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای انجام شد.

آماده سازی زیست توده جلبکی جهت آزمایش‌های حذف اورانیوم

ریزجلبک سبز *C. vulgaris* (ریزجلبک خریداری شده از مرکز ملی ذخایر زیستی و ژنتیکی ایران (IBRC) به شماره شناسایی *Chlorella vulgaris IBRC-M-50026*) در محیط کشت مایع BBM با ترکیب موجود در جدول ۱ در شیکر انکوباتور با سرعت۱۵۰ دور در دقیقه و دمای ۲۷ درجه سلسیوس، میزان روشنایی و تاریکی ۱۶ ساعت به ۸ ساعت و شدت روشنایی ۳۰۰۰ لوکس[1]گرماگذاری گردید. به منظور جمع آوری زیست توده ریزجلبکی، محیط کشت حاوی جلبک در دمای ۴ درجه سلسیوس، با سرعت ۴۵۰۰ دور بر دقیقه، به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس سلول‌ها با آب مقطر شسته و برای آزمایش‌های بعدی استفاده شدند. وزن خشک زیست توده نیز پس از شست و شوی سلول‌ها و خشک شدن آنها در آون با دمای ۶۰ درجه سلسیوس تعیین شد (Kumar *et al*., 2015).

جدول ۱: ترکیب محیط کشت BBM (Heidari *et al*., 2017)

عناصر میکرو	محلول های ذخیره (g/l)	حجم	عناصر ماکرو	محلول های ذخیره (g/l)	حجم
$ZnSO_4.7H_2O$	۸/۸۲	۱ml	$NaNO_3$	۲۵	۱۰ml
$MnCl_2.4H_2O$	۱/۴۴	۱ml	$CaCl_2.2H_2O$	۲/۵	۱۰ml
MoO_3	۰/۷۱	۱ml	$MgSO_4.7H_2O$	۷/۵	۱۰ml
$CuSO_4.5H_2O$	۱/۵۷	۱ml	K_2HPO_4	۷/۵	۱۰ml
$Co(NO_3)2.6H_2$	۰/۴۹	۱ml	KHPO4	۱۷/۵	۱۰ml
H_3BO_3	۱۱/۴۲	۱ml	NaCl	۲/۵	۱۰ml
محلول اسیدی	محلول های ذخیره (g/l)	حجم	محلول بازی	محلول های ذخیره (g/l)	حجم
$FeSO_4.7H_2O$	۴/۹۸	۱ml	EDTA anhydrates	۵۰	۱ml
H_2SO_4	۱	۱ml	KOH	۳۱	۱ml

[1] Lux

آزمایش‌های زیست پالایی در حالت ناپیوسته

آزمایش‌های حذف اورانیوم توسط ریزجلبک *C. vulgaris* در ظروف حاوی ۲۰ میلی لیتر محلول اورانیوم با شرایط مشخص شده جهت هر آزمایش در طراحی آزمایش‌ها انجام شد. سپس هر نمونه با صافی غشایی ۰/۲ میکرومتری فیلتر گردید و میزان اورانیوم در محلول توسط دستگاه ICP- OES(Perkin Elmer Optima 2000 DV) سنجیده شد. دو ارلن حاوی ریزجلبک‌ها و محیط فاقد اورانیوم به عنوان کنترل استفاده شدند.

طراحی آزمایش‌ها

ابتدا عوامل تأثیر گذار بر جذب اورانیوم مانند اثر pH، دما، مقدار زیست توده و غیره انتخاب و سپس با استفاده از طراحی پلاکت برمن (Plackett-Burman) شناسایی عوامل موٴثر بر زیست پالایی اورانیوم توسط ریزجلبک *C. vulgaris* از محلول‌های حاوی اورانیوم انجام شد. در این بررسی از نرم افزار آماری Minitab 16.0 برای طراحی آزمایش‌ها، تحلیل نتایج و تعیین اهمیت هر عوامل استفاده شد. نتایج طراحی آزمایش غربالگری عوامل در جدول ۲ ارائه شده است. در این بررسی، پنج عامل شامل غلظت اولیه اورانیوم (A)، دما (B)، زمان (C)، pH (D) و مقدار زیست توده (E) در دو سطح و با ۲ تکرار در نقطه مرکزی و با انجام ۱۴ آزمایش، غربالگری شد (در روش پلاکت برمن هر عامل مستقل بررسی می شود).

جدول ۲: متغیرهای مستقل روش طراحی پلاکت برمن و سطوح کد شده

متغیر	نماد	سطح‌ها	
		-1	+1
غلظت اولیه اورانیوم (mg/l)	A	۱	۱۰
دما (درجه سلسیوس)	B	۲۵	۴۰
زمان (ساعت)	C	۰/۵	۴۸
pH	D	۴	۷
مقدار زیست توده (g/l)	E	۰/۷۵	۲/۵

پس از غربال عوامل موٴثر در زیست پالایی اورانیوم، آزمایش‌های بهینه سازی عوامل موٴثر بر زیست پالایی اورانیوم توسط ریزجلبک *C. vulgaris* توسط روش سطح پاسخ (RSM) انجام شد. در این پژوهش، متغیرهای تاثیرگذار منتخب در پنج سطح $-\alpha$، -1، 0، 1+ و $+\alpha$ به صورتیکه در جدول ۳ ارائه شده است مطالعه شد. بر این اساس، با استفاده از طراحی مرکب مرکزی

۱۳ سری آزمایش طراحی گردید. جهت تحلیل آماری داده ها و بهینه سازی آن از نرم افزار آماری Design-Expert 7.0 استفاده شد (Witek-Krowiak *et al*., 2014).

جدول ۳: متغیرهای روش طراحی مرکب مرکزی و سطوح کد شده

متغیر	نماد	سطح‌ها				
		-α	-1	0	+1	+α
pH	A	۴	۴/۷	۶/۵	۸/۳	۹
غلظت اولیه اورانیوم (mg/l)	B	۱	۲/۳	۵/۵	۸/۶۸	۱۰

در فرآیند زیست پالایی، مقدار یون فلزی حذف شده توسط ریزجلبک با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید که در آن C_0 غلظت اولیه فلز در محلول (mg/l)، C_f غلظت نهایی فلز در محلول (mg/l) است (Kasra-Kermanshahi *et al*., 2019; Vijayaraghavan & Yun, 2008).

$$R = \frac{(C_0 - C_f)}{C_0} \times 100$$

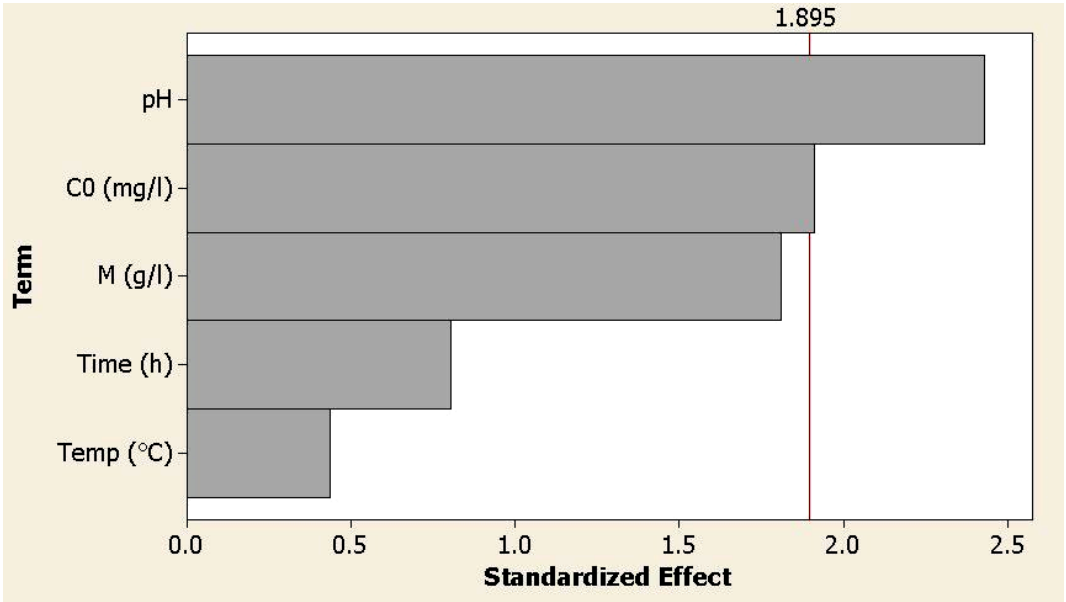
نتایج و بحث

غربالگری عوامل موٴثر بر میزان حذف اورانیوم در هر آزمایش در جدول ۴ مشاهده می‌گردد. آزمایش‌های زیست پالایی اورانیوم، درون ظروف حاوی ۲۰ میلی لیتر محلول اورانیوم با غلظت و pH مشخص و با میزان زیست توده لازم از ریزجلبک در دمای مشخص انجام گرفت.

نتایج تحلیلی نرم افزار Minitab که شامل نمودار Pareto، نمودار نرمال اثرات استاندارد شده و نمودار اثرات اصلی بر پاسخ است در اشکال ۱ تا ۳ مشاهده می گردد. باتوجه به مقادیر بدست آمده، عوامل غلظت اولیه اورانیوم و pH توسط نرم افزار به عنوان عوامل موٴثر شناسایی گردید و مقدار زیست توده، دما و زمان به عنوان عوامل غیر موٴثر شناسایی شد. نمودار Pareto در شکل ۱، عوامل موٴثر و غیر موٴثر و نیز میزان تاثیرگذاری کمی هر یک از آنها بر پاسخ را ارائه می‌دهد.

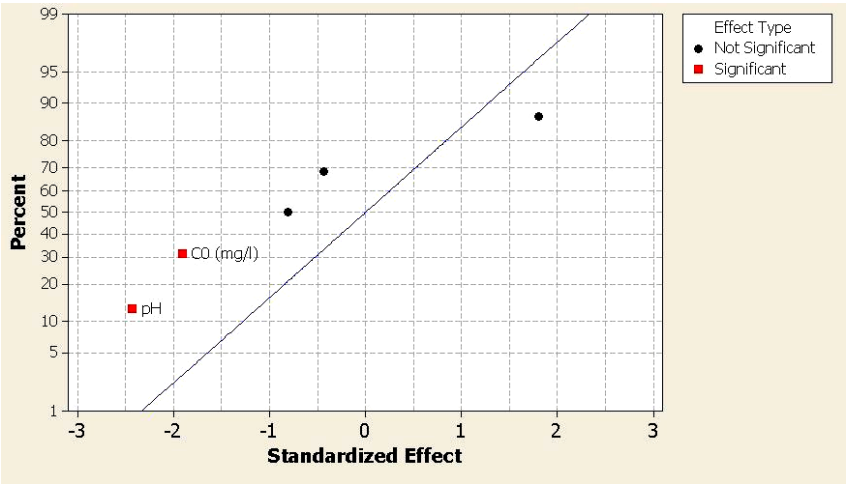
جدول ۴: غربالگری عوامل موٴثر بر جذب زیستی اورانیوم با استفاده از روش پلاکت برمن

ردیف	شماره آزمایش	غلظت اولیه اورانیوم **(mg/l)**	دما (درجه سلسیوس)	زمان (ساعت)	**pH**	مقدار زیست توده **(g/l)**	پاسخ **R (%)**
۱	۱	۱	۲۵	۴۸	۷	۲/۵	۸۵
۲	۲	۱۰	۴۰	۰/۵	۷	۲/۵	۱۰/۰۲
۳	۳	۱۰	۲۵	۴۸	۴	۰/۷۵	۲۸/۱۷
۴	۴	۱	۴۰	۴۸	۷	۰/۷۵	۹/۱۵
۵	۵	۱	۲۵	۰/۵	۴	۰/۷۵	۸۸/۳۱
۶	۶	۱۰	۴۰	۴۸	۴	۲/۵	۹۶/۸۳
۷	۷	۵/۵	۳۲/۵	۲۴/۲۵	۵/۵	۱/۶۲۵	۹۶/۰۳
۸	۸	۱	۲۵	۰/۵	۷	۲/۵	۸۶
۹	۹	۱۰	۲۵	۴۸	۷	۰/۷۵	۲۰/۹۱
۱۰	۱۰	۱	۴۰	۴۸	۴	۲/۵	۹۱/۵۵
۱۱	۱۱	۱۰	۴۰	۰/۵	۷	۰/۷۵	۴۸/۴۷
۱۲	۱۲	۵/۵	۳۲/۵	۲۴/۲۵	۵/۵	۱/۶۲۵	۹۴
۱۳	۱۳	۱	۴۰	۰/۵	۴	۰/۷۵	۹۲/۰۴
۱۴	۱۴	۱۰	۲۵	۰/۵	۴	۲/۵	۷۸/۱۷

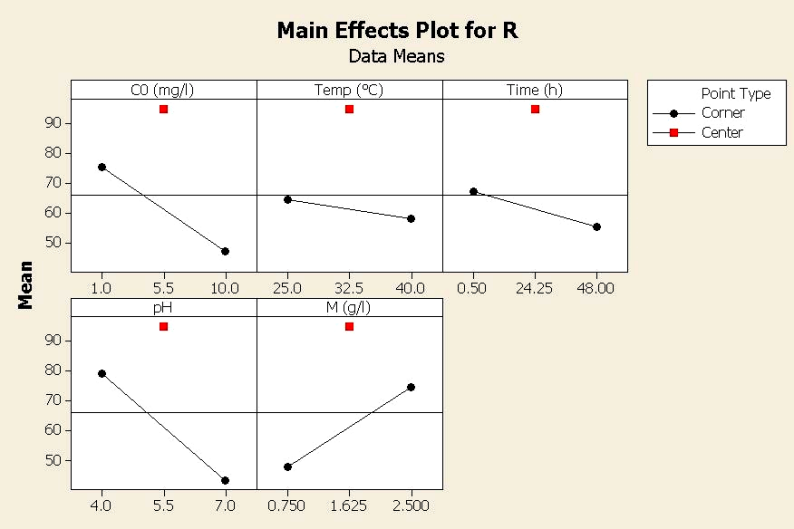


شکل ۱: نمودار Pareto بیانگر میزان تاثیر عوامل بر پاسخ خروجی نرم افزار Minitab (C0= **غلظت اولیه اورانیوم** (mg/l)، M = **مقدار زیست توده** (g/l)، Time = **زمان (ساعت)**، Temp = **دما (درجه سلسیوس)**)

در نمودار اثرات استاندارد شده، عوامل دارای اثر مثبت در میزان حذف اورانیوم در سمت راست خط مورب و عوامل دارای اثر منفی در میزان حذف اورانیوم در سمت چپ خط مورب نشان داده شدند (شکل ۲). همچنین در نمودار اثرات اصلی، میزان اثر گذاری و نوع اثر(مثبت یا منفی) هر یک از عوامل به صورت مجزا ارائه شده است (شکل ۳).



شکل ۲: نمودار نرمال اثرات استاندارد شده عوامل فرآیند، خروجی نرم افزار Minitab (C0= غلظت اولیه اورانیوم (mg/l))



شکل ۳: نمودار اثرات اصلی بر پاسخ، خروجی نرم افزار Minitab (C0= غلظت اولیه اورانیوم (mg/l)، M = مقدار زیست توده (g/l)، Time = زمان (ساعت)، Temp = دما (درجه سلسیوس))

بررسی عوامل تأثیر گذار بر زیست پالایی اورانیوم با طراحی پلاکت برمن (Plackett-Burman) توسط Minitab نشان داد که غلظت اولیه اورانیوم و pH از نظر آماری عوامل موٴثر می باشند و مقدار زیست توده، دما و زمان به عنوان عوامل غیر موٴثر شناسایی شدند. بنابراین، در ادامه بهینه سازی مقدار زیست توده، دما و زمان از آزمایش‌ها حذف شد. جهت تعیین اثرات اصلی و

برهمکنش دو متغیر تاثیرگذار غلظت اولیه اورانیوم و pH بر زیست پالایی اورانیوم توسط ریزجلبک *C. vulgaris*، از طراحی مرکب مرکزی (CCD) در RSM استفاده شد. بر این اساس، با استفاده از طراحی مرکب مرکزی، ۱۳ سری آزمایش طراحی گردید. مقادیر متغیرها و پاسخ‌های آزمایشگاهی در جدول ۵ ارائه شده است.

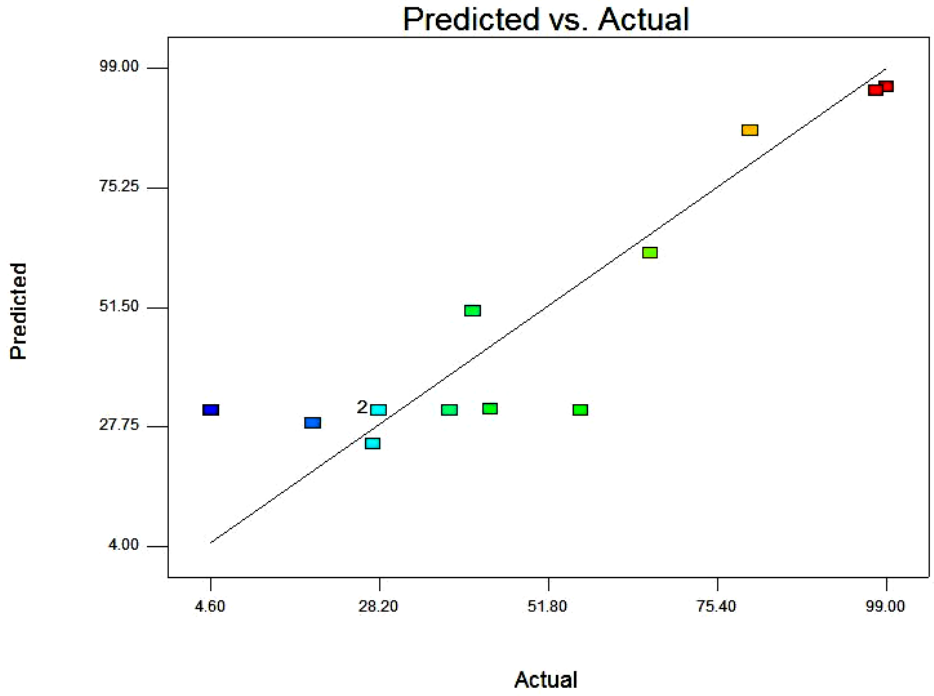
جدول ۵: مقادیر متغیرها و پاسخ‌های آزمایشگاهی طراحی مرکب مرکزی در روش رویه پاسخ

ردیف	شماره آزمایش	pH	غلظت اولیه اورانیوم (mg/l)	پاسخ R (%)
۱	۱	۶/۵	۱۰	۲۷/۲۴
۲	۲	۸/۳	۲/۳	۱۸/۸۵
۳	۳	۶/۵	۵/۵	۴/۶
۴	۴	۴	۵/۵	۸۰
۵	۵	۶/۵	۵/۵	۳۸/۰۳
۶	۶	۴/۷	۸/۶۸	۹۹
۷	۷	۴/۷	۲/۳	۶۶/۰۳
۸	۸	۶/۵	۵/۵	۵۶/۲۸
۹	۹	۹	۵/۵	۴۳/۶۴
۱۰	۱۰	۶/۵	۱	۹۷/۶
۱۱	۱۱	۶/۵	۵/۵	۲۸/۰۶
۱۲	۱۲	۶/۵	۵/۵	۲۸/۰۶
۱۳	۱۳	۸/۳	۸/۶۸	۴۱/۲

مدل پیشنهاد شده توسط نرم‌افزار به صورت زیر تعریف شده است:

$$R1 = -544.42261 + 211.84291 * pH + 144.23372 * C - 51.07477 * pH * C - 16.94662 * pH^2 + 1.40686 * C^2 + 3.89252 * pH^2 * C$$

به منظور تأیید مؤثر بودن اثرات اصلی و برهمکنشی متغیرها، تحلیل واریانس انجام شد. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ و مقدار F بزرگ در جدول تحلیل واریانس نشان‌دهنده تأثیر بیشتر متغیرها با سطح اطمینان ۹۵ درصد است. مقادیر P و F مدل پیشنهادی به ترتیب برابر با ۰/۰۳۹ و ۴/۷۹ است که دلالت بر صحت مدل پیشنهادی دارد. همچنین مقادیر R^2 برابر با ۰/۸۳ است که نشان می‌دهد که مدل پیشنهادی به خوبی قادر است مقادیر تجربی را پیش‌بینی کند. در بحث کارآمدی مدل، شکل ۴ انحراف داده‌های تجربی از داده‌های پیش‌بینی شده را نشان می‌دهد. بنابراین با توجه به نزدیکی اکثر داده‌های تجربی به خط ترسیم‌شده، می‌توان نتیجه گرفت که معادله ارائه شده به خوبی فرآیند زیست پالایی اورانیوم را توسط ریزجلبک منتخب توصیف می‌کند.



شکل ۴: مقایسه‌ی مقادیر تجربی و پیش‌بینی‌شده به‌منظور ارزیابی کارآمدی مدل

جدول ۶: تحلیل واریانس مدل پیشنهادی

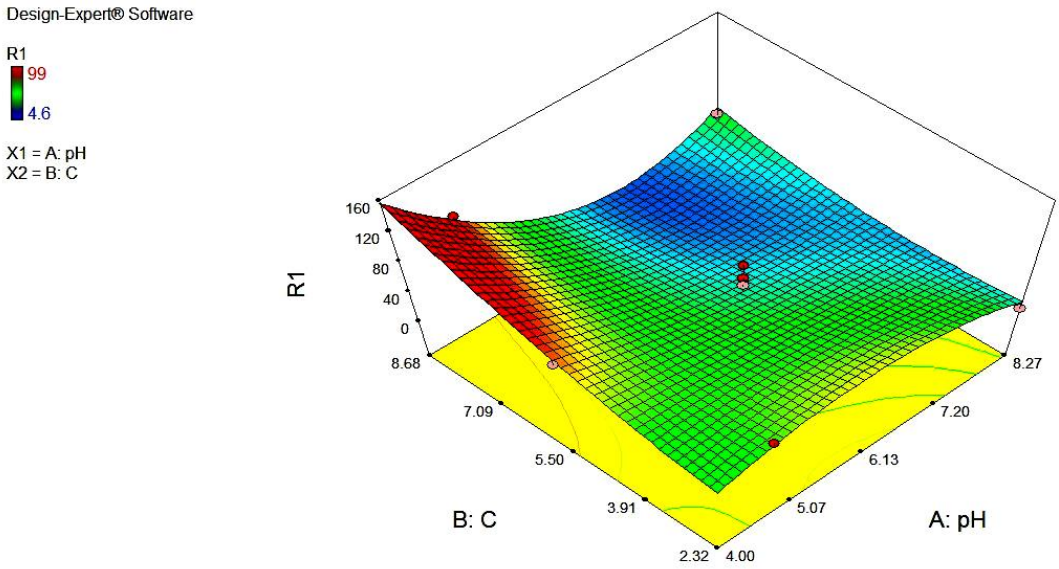
مرجع	Sum of squares	df	Mean square	F value	p-value
Model	8771.532	6	1461.922	4.793803	0.0390
A-pH	3057.651	1	3057.651	10.02638	0.0194
B-C	2475.265	1	2475.265	8.116666	0.0292
AB	28.1961	1	28.1961	0.092458	0.7713
A^2	1352.689	1	1352.689	4.435617	0.0798
B^2	1411.518	1	1411.518	4.628524	0.0750
A^2B	2996.311	1	2996.311	9.825235	0.0202

تحلیل واریانس مدل، فاکتورهای اصلی و برهم کنش فاکتورها در جدول ۶ ارائه شده است. نتایج نشان می دهد که فاکتور اصلی A و B از لحاظ آماری (p-value <۰/۰۵) روی فرآیند تاثیرگذار هستند. همچنین در شرایط آزمایشگاهی استفاده شده نتایج نشان داد که با افزایش pH از ۴ تا ۹، میزان حذف از ۸۶/۵ درصد به ۳۱/۲۴ درصد کاهش می یابد. مطالعات قبلی حذف فلزات نشان می‌دهد که pH یکی از مهمترین عوامل محیطی است. pH محلول می‌تواند فعالیت گروه‌های عاملی زیست توده را تحت تأثیر قرار دهد. همچنین pH به شدت می تواند برای فلزات اختصاصیت داشته باشد و در دسترس بودن یون‌های فلزی را تحت تأثیر قرار دهد (Volesky, 1994; Yi et al., 2012). برای مثال در محدوده pH های اسیدی تا نزدیک به خنثی، چهار کمپلکس اصلی, $(UO_2)_2(OH)_2^{2+}$ $UO_2(OH)^+$ UO_2^{2+} و $(UO_2)_3(OH)_5^+$ برای اورانیوم در محلول وجود دارد. همراه با افزایش pH، درصد UO_2^{2+} در محلول کاهش یافته، در حالیکه درصد گونه‌های تک ظرفیتی $UO_2(OH)^+$ و $(UO_2)_3(OH)_5^+$

افزایش می‌یابد (Bahrami- Bavani, 2017; Tsuruta & technology, 2006; Wang et al., 2010) که می تواند در دسترس بودن اورانیوم را به منظور جذب تحت تاثیر قرار دهد.

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اورانیوم از ۱ تا ۱۰ میلی گرم بر لیتر، میزان حذف از ۹۴/۶۷ درصد به ۲۴/۳ درصد کاهش می‌یابد. این امر ناشی از افزایش سمیت اورانیوم همراه با افزایش غلظت این فلز و احتمالا به دلیل سیستم‌های مقاومت ریزجلبک می‌باشد که باعث کاهش در بازده جذب اورانیوم توسط ریزجلبک شده است. در بعضی از تحقیقات بیان شده است که افزایش غلظت اورانیوم منجر به افزایش نیروی محرکه انتقال جرم و غلبه بر مقاومت‌های انتقال جرم می‌شود که افزایش بازده جذب اورانیوم را از محیط‌های آبی به دنبال دارد (Kasra-Kermanshahi *et al*., 2019). اما در برخی از گزارش‌ها نیز ذکر شده است که حذف زیستی در غلظت‌های کم یون فلز، با کارایی بیشتری نسبت به غلظت‌های بالاتر صورت می‌گیرد. با توجه به سمیت برخی از یون‌های فلزات سنگین برای سویه‌های جلبکی زنده، جذب یون‌های فلزی با افزایش غلظت یون فلز کاهش می‌یابد. بنابراین، بهینه سازی غلظت یون‌های فلزی برای جذب کارآمد فلزات توسط جلبک‌ها ضروری است (Mehta, 2001).

نتایج رویه سه بعدی برهمکنش فاکتورهای موٴثر در حذف اورانیوم، توسط ریزجلبک *C. vulgaris* در شکل ۵ نشان داده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده مشخص شد که ریزجلبک *C. vulgaris* در شرایط بهینه پیشنهاد شده توسط نرم‌افزار Design-Expert 7.0 (غلظت اورانیوم برابر با ۷/۱ میلی گرم بر لیتر و pH ۴/۳) قادر به حذف ۹۹/۶۳ درصد اورانیوم از محیط آبی است.



شکل ۵: رویه سه‌بعدی برهم‌کنش مقدار غلظت اورانیوم (mg/l) **و** pH **بر حذف زیستی اورانیوم توسط ریزجلبک** *C. vulgaris* (C= **غلظت اولیه اورانیوم** (mg/l)، R = **مقدار یون اورانیوم حذف شده** (%))

نتیجه گیری

استفاده از فرآیندهای زیست پالایی برای حذف فلزات سنگین و اورانیوم از پساب های پرتوزا از فاضلاب ها، بسیاری از محدودیت های بزرگ سایر روش های فیزیکوشیمیایی را نداشته و از نظر اقتصادی نیز مطلوب تر است. با این حال مطالعات بیشتری جهت برطرف نمودن محدودیت های کنونی این فناوری برای استفاده در مقیاس صنعتی مورد نیاز است. زیست پالایی که در آن از ریزجلبک ها جهت سمیت زدایی بسیاری از آلاینده های زیست محیطی استفاده می شود، می تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های فیزیکو شیمیایی فعلی در حذف فلزات سنگین باشد. به منظور انجام درست آلودگی زدایی توسط فن آوری زیست‌پالایی می بایست کارایی جاذب‌های زیستی مختلف در این فرآیند با توجه به دامنه‌ی غلظت‌های مختلف یون‌های فلزی تعیین گردد. بنابراین باید مطالعات بیشتری انجام شود تا ریزجلبک هایی که بهترین عملکرد را در زیست پالایی فلزات مختلف و ترکیبات آن دارند انتخاب شوند. موفقیت ریزجلبک‌ها در زمینه حذف فلزات سنگین و رادیونوکلئیدها به توانایی یک ریزجلبک برای حذف آلاینده‌ها بستگی دارد. استفاده موفق از ریزجلبک ها در پاکسازی مشروط بر تجزیه و تحلیل عوامل موٴثر در حذف فلزات توسط یک جاذب زیستی است. نتایج این پژوهش نشان داد که ریزجلبک زنده *C. vulgaris* به دلیل داشتن توانایی بالای حذف اورانیوم از محلول های آلوده به غلظت‌های پایین اورانیوم، می تواند گزینه مناسبی برای ساخت تالاب‌های مصنوعی در زیست پالایی محلول های آلوده به غلظت پایین اورانیوم در فاز نیمه صنعتی از این ریزجلبک باشد.

منابع

Ahalya, N., Ramachandra, T. and Kanamadi, R. (2003). Biosorption of heavy metals. Research Journal of Chemistry and Environment 7(4): 71-79.

Ahluwalia, S.S. and Goyal, D. (2007). Microbial and plant derived biomass for removal of heavy metals from wastewater. Bioresource Technology, 98(12): 2243-2257.

Aljamali, N.M., Jawad, A.M. and Jawad, A. (2019). A Literature Review on Types of Contamination (Biological, Chemical, Medical). International Journal of Green Chemistry, 5(1).

Antunes, W.M., Luna, A.S., Henriques, C.A. and da Costa, A.C. (2003). An evaluation of copper biosorption by a brown seaweed under optimized conditions. Electronic Journal of Biotechnology, 6(3): 174-184.

Bahrami- Bavani, M. (2017). Study on the biosorption ability of Molybdenum and Uranium by *Acidithiobacillus ferrooxidans* from aqueous solutions. *M.Sc.Thesis Alzahra University*.

Bem, H. and Bou-Rabee, F. (2004). Environmental and health consequences of depleted uranium use in the 1991 Gulf War. Environment international, 30(1): 123-134.

Box, G.E. and Draper, N.R. (1987). Empirical model-building and response surfaces. Wiley New York.

De-Bashan, L.E. and Bashan, Y. (2010). Immobilized microalgae for removing pollutants: A Review of practical aspects. Bioresource Technology, 101(6): 1611-1627.

Doshi, H., Ray, A., Kothari, I. and Gami, B. (2006). Spectroscopic and scanning electron microscopy studies of bioaccumulation of pollutants by algae. Current microbiology, 53(2): 148-157.

Doshi, H., Ray, A. and Kothari, I. (2007). Bioremediation potential of live and dead *Spirulina*: spectroscopic, kinetics and SEM studies. Biotechnology Bioengineering, 96(6): 1051-1063.

Fu, F. and Wang, Q. (2011). Removal of heavy metal ions from wastewaters: A Review. Journal of Environmental Management, 92(3): 407-418.

Fu, M.C. (2015). Handbook of simulation optimization. International Series in Operations Research &Management Science, University of Maryland College Park, MD, USA.

Gadd, G. (1990) Heavy metal accumulation by bacteria and other microorganisms. Experientia, 46(8): 834-840.

Heidari, F., Riahi, H., Aghamiri, M.R., Shariatmadari, Z. and Zakeri, F. (2017). Isolation of an efficient biosorbent of radionuclides (^{226} Ra, ^{238} U): green algae from high-background radiation areas in Iran. Journal of Applied Phycology, 29(6): 2887-2898.

Kasra-Kermanshahi, R., Bahrami-Bavani, M. and Tajer-Mohammad-Ghazvini, P. (2019). Microbial clean-up of uranium in the presence of molybdenum using pretreated *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 322(2): 1139-1149.

Khan, M.A., Rao, R.A.K. and Ajmal, M. (2008). Heavy metal pollution and its control through nonconventional adsorbents (1998-2007): A Review. Journal of International Environmental Application Science,3(2): 101-141.

Kumar, K.S., Dahms, H.-U., Won, E.-J., Lee, J.-S. and Shin, K.-H. (2015). Microalgae–A promising tool for heavy metal remediation. Ecotoxicology Enviromental Safety,113: 329-352.

Li, X., Ding, C., Liao, J., Lan, T., Li, F., Zhang, D., Yang, J., Yang, Y., Luo, S. and Tang, J. (2014). Biosorption of uranium on *Bacillus sp. dwc-2*: preliminary investigation on mechanism. Journal of Environmental Radioactivity, 135: 6-12.

Mallick, N. (2002). Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N, P and metal removal: A Review. Biometals, 15(4): 377-390.

McDiarmid, M.A., Keogh, J.P., Hooper, F.J., McPhaul, K., Squibb, K., Kane, R., DiPino, R., Kabat, M., Kaup, B. and Anderson, L. (2000). Health effects of depleted uranium on exposed Gulf War veterans. Environmental Research, 82(2): 168-180.

Mehta, S.K. and Gaur, J.P. (2001). Removal of Ni and Cu from single and binary metalsolutions by free and immobilized *Chlorella vulgaris*. European Journal of Protistology,37(3): 261-271.

Oboh, I., Aluyor, E. and Audu, T. (2009). Biosorption of heavy metal ions from aqueous solutions using a biomaterial. Leonardo Journal of Sciences,14: 58-65.

Oswald, W. (1988). Micro-algae and waste-water treatment. Borowitzka MA, LJ Borowitzka,(eds.). Micro-Algal Biotechnology. New York, Cambridge University Press. USA.

Perales-Vela, H.V., Pena-Castro, J.M. and Canizares-Villanueva, R.O. (2006). Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae. Chemosphere, 64(1): 1-10.

Ryan, R. and Denton, R. (1973). Initial releases of *Chrysocharis laricinellae* and *Dicladocerus westwoodii* for biological control of the larch casebearer in the western United States. Pacific Northwest Forest and Range Experiment Station, Portland, Oregon.

Tsuruta, T.J. (2006). Removal and recovery of uranium using microorganisms isolated from Japanese uranium deposits. Journal of Nuclear Science Technology, 43(8): 896-902.

Vijayaraghavan, K. and Yun, Y.-S. (2008). Bacterial biosorbents and biosorption. Biotechnology Advances, 26(3): 266-291.

Volesky, B. (1990). Removal and recovery of heavy metals by biosorption. Biosorption of Heavy Metals, 7-43.

Volesky, B. (1994). Advances in biosorption of metals: selection of biomass types. FEMS Microbiology Reviews, 14(4): 291-302.

Wang, J.-s., Hu, X.-j., Wang, J., Bao, Z.-l., Xie, S.-b. and Yang, J.-h. (2010). The tolerance of *Rhizopus arrihizus* to U (VI) and biosorption behavior of U (VI) onto *R. arrihizus*. Biochemical Engineering Journal, 51(1-2): 19-23.

Witek-Krowiak, A., Chojnacka, K., Podstawczyk, D., Dawiec, A. and Pokomeda, K. (2014). Application of response surface methodology and artificial neural network methods in modelling and optimization of biosorption process. Bioresource Technology, 160: 150-160.

Yi, Z.-j. and Yao, J. (2012). Kinetic and equilibrium study of uranium (VI) adsorption by *Bacillus licheniformis*. Journal of Radioanalytical Nuclear Chemistry, 293(3): 907-914.

Study of effective factors on biological removal of uranium by live microalgae *Chlorella vulgaris*

P. Mohammadi[1], N. Javanmardi[2], P. Tajer-Mohammad-Ghazvini[3]*

Received: 2021.5.16
Accepted: 2021.7.19

Abstract

Bioremediation by microalga is an effective method to remove radionuclides and heavy metals from wastewater. In this study, the bioremediation of uranium from aqueous solutions was evaluated using microalgae *Chlorella vulgaris* in a batch system. The Plackett-Burman method by Minitab statistical software was used to screen for effective factors such as initial uranium concentration, temperature, time, pH and amount of biomass on the bioremoval of uranium. The results showed that the initial uranium concentration and pH were statistically effective. To determine the main effects and interaction of factors affecting uranium removal, central composite design was used. The experimental data were then processed and the equation was evaluated to match the experimental data, and then the optimal removal values were determined. The results showed that *C. vulgaris* in optimal conditions proposed by Design-Expert software can remove 99.63% of existing uranium from solutions containing 7.1 mg / l uranium with pH 4.3.

Keywords: Bioremediation, Experimental design, Heavy metals, Microalgae, Uranium

1 Associate Professor, Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran.
2 Msc., Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran.
3 Assistant Professor, Nuclear Fuel Cycle Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, Iran, (Corresponding Author: ptajer@aeoi.org.ir).