

بررسی سینتیک و ماهیت جذب مالاشیت گرین توسط ریز جلبک‌های سبز

نصرت‌الله محبوبی صوفیانی^۴

سالار درافشان^۳

امیدوار فرهادیان^۲

مسعود کوشا^۱

پذیرش ۹۲/۱۰/۱۷

دریافت ۹۲/۵/۱۰

چکیده

در مطالعه حاضر، تأثیر چهار فاکتور اصلی غلظت اولیه مالاشیت گرین، pH اولیه محلول حاوی مالاشیت گرین، وزن زی توده جلبک‌ها و مدت زمان انجام آزمایش بر روی راندمان جذب مالاشیت گرین توسط ریز جلبک‌های سبز *Scenedesmus* و *Chlorella* با استفاده از روش باکس-بنکن مورد ارزیابی قرار گرفت. حداکثر راندمان جذب زیستی مالاشیت گرین توسط ریز جلبک‌های سبز *Scenedesmus* و *Chlorella* به ترتیب ۷۶/۲۳ و ۹۱/۳۲ درصد بود. در شرایط بهینه، مدل شبه‌درجه دوم بهترین تناسب را با داده‌های آزمایش نسبت به سایر مدل‌ها نشان داد ($R^2 > 0.99$). روش اسپکتروسکوپی مادون قرمز نشان داد که چندین گروه عاملی، به خصوص گروه‌های کربوکسیل، هیدروکسیل و آمین در سطح زی توده‌های جلبکی، مسئول اتصال یون‌های مالاشیت گرین به سطح جلبک‌ها در فرایند جذب زیستی هستند. علاوه بر این، تفاوت راندمان‌های حذف مالاشیت گرین توسط زی توده‌های جلبکی، می‌تواند ناشی از تفاوت در برخورد بین مولکول‌های رنگی و زی توده‌های جلبکی باشد. این یافته‌ها نشان داد که زی توده‌های جلبکی می‌توانند به عنوان مواد زیستی مناسب برای جذب زیستی مالاشیت گرین از پساب استفاده شوند.

واژه‌های کلیدی: جذب زیستی، ریز جلبک سبز *Scenedesmus*، ریز جلبک سبز *Chlorella*، مدل‌های سینتیک، نورسنجی فرورسرخ

Investigation of the Kinetics and Nature of Malachite Green Biosorption by Green Microalgae

M. Kousha¹

O. Farhadian²

S. Dorafshan³

N. Mahboobi Soofiani⁴

(Received Aug. 1, 2013)

Accepted Jan. 7, 2014)

Abstract

In the present study, the Box-Behnken design was used to investigate the effects of the four main parameters of initial Malachite green (MG) concentration, initial solution pH, algae content, and contact time on the efficiency of dye biosorption by the green microalgae *Scenedesmus quadricauda* and *Chlorella vulgaris*. The results showed that maximum dye removal efficiencies of *S. quadricauda* and *C. vulgaris* biomasses for the biosorption of MG were 76.23 and 91.32%, respectively. Under optimum conditions, the pseudo-second order fitted with the experimental data much better than other similar models ($R^2 > 0.99$). The FT-IR spectroscopy method showed that several functional groups, especially carboxyl, hydroxyl, and amine groups, present on the surface of the *S. quadricauda* and *C. vulgaris* biomasses are responsible for binding of MG ions in the biosorption process. The differences observed in the MG biosorption efficiencies of algal biomasses may be attributed to differences in interactions between the dye molecules and the algal biomasses. Finally, the findings revealed that the algal biomasses used in this study are suitable as the biomaterial for MG biosorption from wastewaters.

Keywords: Biosorption, *Scenedesmus quadricauda*, *Chlorella vulgaris*, Kinetic Models, Fourier Transform Infra-Red.

1. Grad. MSc Student, Dept. of Natural Resources, Isfahan University of Tech., Isfahan
2. Assoc. Prof., Dept. of Natural Resources, Isfahan University of Tech., Isfahan (Corresponding Author), (+98 31) 33913564 omfarhad@cc.iut.ac.ir
3. Assist. Prof., Dept. of Natural Resources, Isfahan University of Tech., Isfahan
4. Prof., Dept. of Natural Resources, Isfahan University of Tech., Isfahan

- ۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان
- ۲- دانشیار، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان (نویسنده مسئول)
omfarhad@cc.iut.ac.ir (۰۳۱) ۳۳۹۱۳۵۶۴
- ۳- استادیار، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان
- ۴- استاد، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان

مالاشیت گرین، تجهیزات گران قیمت و نیاز به سیستم نظارت، نیاز به انرژی و مصرف بالای مواد شیمیایی و تولید لجن سمی هستند [۹].

حذف آلاینده‌ها و ترکیبات مضر به روش‌های مختلفی انجام می‌شود که جذب زیستی یکی از آن روش‌ها است. جذب زیستی فرایندی فیزیوشیمیایی است که به صورت طبیعی در یک زی توده^{۱۸} یا مواد با منشأ زیستی از موجودات زنده اتفاق می‌افتد و اجازه می‌دهد تا آلاینده‌ها و ترکیبات مضر به صورت غیرفعال و بدون صرف انرژی با ساختارهای یونی موجود در سطح سلولی زی توده پیوند برقرار کنند [۱۰]. استفاده از فرایندهای زیستی در تصفیه پساب‌های آلوده و غنی از آلاینده، ضمن رفع مشکلات و تکمیل روش‌های فیزیکی و شیمیایی رایج، ابزار اقتصادی و کم هزینه‌ای را برای تصفیه پساب‌های آلوده فراهم می‌آورد. امروزه توجهی ویژه به استفاده از انواع مختلف زی توده‌های ارزان برای حذف آلاینده‌های معدنی و آلی از پساب‌ها پدید آمده است [۱۱] و [۱۲].

در سال‌های اخیر مطالعاتی بر روی میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری، قارچ و جلبک‌های میکروسکوپی و ماکروسکوپی انجام شده است؛ اما به جلبک‌ها به لحاظ پتانسیل بالای آنها در حفاظت محیط زیست بسیار توجه شده است [۱، ۶، ۱۳، ۱۴ و ۱۵]. جاذب‌های جلبکی به خاطر ساختار سلولزی دیواره سلولی، مکان‌های اتصال کربوکسیلی و هیدروکسیلی بیشتری دارند [۱۶]. جلبک‌ها ارگانیسم‌های فتوسنتز کننده‌ای هستند که تقریباً در تمام نقاط جهان و در انواع زیستگاه‌ها وجود دارند [۱۷]. آنها توانایی تجزیه و حذف ترکیبات شیمیایی مختلفی را دارند؛ اما میزان این توانایی وابسته به ساختار شیمیایی ترکیب و نوع گونه جلبکی است [۱۸ و ۱۹].

استفاده از جلبک‌ها به صورت زی توده خشک، برخلاف شکل فعال و زنده محدودیت‌های بسیاری ندارد. جلبک‌های فعال یا زنده، امکان رشد و ادامه حیات در دماهای بالاتر از ۲۴ درجه سلسیوس و pH کمتر از ۷ را ندارند. بنابراین کارایی جاذب در شرایط بهینه دما و pH به بیشترین مقدار می‌رسد. در پساب‌های متنوع با گستره دمایی متغیر، جلبک‌های زنده استفاده زیادی ندارند و کاربرد آنها به فرم زنده محدود می‌شود. همچنین، عدم نیاز به سیستم نگهداری و پرورش، لزوم استفاده از زی توده خشک را ضروری می‌نماید [۲۰] و [۲۱].

همان‌گونه که قبلاً اشاره شد یکی از ترکیبات رنگی، مالاشیت گرین است که به منظور حذف آن از محیط‌های آبی می‌توان از زی توده جلبک‌ها استفاده نمود [۱۸، ۲۲ و ۲۳]. آزمایش‌های جذب

آسیب‌های ناشی از فعالیت‌های صنعتی و پیشرفت‌های تکنولوژیکی رو به افزایش است و همواره هزینه‌های هنگفتی برای جبران آن صرف می‌شود [۱]. امروزه رنگ‌ها کاربرد و نقش مختلفی در بسیاری از صنایع دارند [۲]. با این وجود، بسیاری از آنها برای انسان‌ها و سایر جانوران سرطان‌زا و جهش‌زا هستند [۳]. یکی از این مواد مالاشیت گرین^۱ است. این ماده یک ترکیب رنگی با ساختار شیمیایی تری فنیل متان است که به طور گسترده‌ای برای زدودن انگل‌های خارجی، قارچ‌ها و باکتری‌ها در صنعت تکثیر و پرورش ماهیان و سخت پوستان استفاده می‌شود. همچنین از آن در صنایع رنگی برای رنگ آمیزی موادی چون ابریشم، پشم، کنف، چرم و کاغذ استفاده می‌شود. مالاشیت گرین عفونت‌های ناشی از باکتری، قارچ، پروتوزوا^۲، سستود^۳، نماتود^۴ و سخت پوستان^۵ را در آبی‌پروری، به خوبی کنترل می‌کند؛ اما عوارضی سمی دارد و موجب بروز تومور در کبد پستانداران می‌شود [۴]. بنابراین مصرف بیش از حد مجاز مالاشیت گرین مشکلی اساسی است که باید برطرف شود، زیرا آثار مخرب محیط زیستی دارد و سلامتی پستانداران و انسان‌ها را تهدید می‌کند [۵]. تاکنون چندین روش فیزیوشیمیایی رایج، همچون ته نشینی شیمیایی^۶، عصاره‌گیری حلال^۸، رزین تبادل یونی^۹، جداسازی غشایی^{۱۰}، از ناسیون^{۱۱}، فتواکسیداسیون^{۱۲}، انعقاد الکتریکی^{۱۳}، شناورسازی کف^{۱۴}، اسمز معکوس^{۱۵}، تعویض یونی^{۱۶} و لخته‌سازی^{۱۷} به منظور حذف مالاشیت گرین و سایر ترکیبات آلی زیانبار از پساب‌ها به کار رفته است [۶].

بر اساس ساختار مولکولی و کمپلکس آروماتیکی رنگ‌ها، به طور کلی رنگ‌ها به نور، فعالیت‌های بیولوژیکی، عوامل اکساینده و سایر شرایط محیط زیستی تجزیه‌ای مقاوم هستند [۷ و ۸]. از این رو سیستم‌های تصفیه بیولوژیکی مرسوم، در تصفیه پساب‌های شامل رنگ‌ها ناکارآمد هستند. از طرف دیگر، این روش‌ها دارای معایبی چون حذف ناقص

- 1 Malachite Green
- 2 Protozoa
- 3 Cestode
- 4 Nematod
- 5 Trematod
- 6 Crustacea
- 7 Chemical Precipitation
- 8 Solvent Extraction
- 9 Ion Exchange
- 10 Membrane Isolation
- 11 Ozonation
- 12 Photooxidation
- 13 Electrocoagulation
- 14 Froth Flotation
- 15 Reverse Osmosis
- 16 Ion Exchange
- 17 Flocculation

¹⁸ Biomass

زیستی مالاشیت گرین به وسیله فیتوفورا^۱ در غلظت‌های مالاشیت گرین اولیه مختلف یعنی ۲۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، مقدار جلبک ۰/۰۰۳ تا ۰/۰۶ گرم و pH اولیه محلول به میزان ۲ تا ۷ نشان داد که این واکنش وابسته به pH است و رابطه سینتیکی، واکنش متناسب با رابطه شبه درجه دوم برای کل غلظت‌ها و میزان جذب ۱۱۷/۷ میلی‌گرم بر گرم است [۱۸]. حذف مالاشیت گرین با استفاده از مخلوط حاوی جلبک دریایی^۲ به میزان ۰/۱ گرم در ۳۵ میلی‌لیتر محلول و در غلظت‌های مختلف، از ۳۰ تا ۷۰ میلی‌گرم در لیتر، مشخص کرد که سرعت واکنش، متناسب با رابطه شبه درجه دوم است و شاید ماهیت جذب آن جذب سطحی بوده که به علت طبیعت همزمان واکنش جذب زیستی است [۲۲].

همچنین آزمایش‌ها، جذب زیستی را بر روی حذف مالاشیت گرین از محلول آبی توسط زی توده پسماند حاصل از جلبک سبز کلرلا^۳ به مقادیر جلبکی ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر، با غلظت اولیه ۲ تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر و pH های مختلف ۳، ۵، ۷، ۹ و ۱۱ نشان داد، که این واکنش در شرایطی با جلبک ۱ گرم در لیتر، غلظت اولیه مالاشیت گرین ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و pH محدوده ۷ در طی مدت ۶۰ دقیقه به تعادل می‌رسد و رابطه سینتیکی آن شبه درجه دوم است و قدرت جذب بیشینه مالاشیت گرین در غلظت اولیه مالاشیت گرین ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، مقدار ۱۸/۷ میلی‌گرم بر گرم است [۲۳].

هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر چهار فاکتور اصلی غلظت اولیه مالاشیت گرین، pH اولیه محلول حاوی مالاشیت گرین، وزن زی توده جلبک‌ها و مدت زمان انجام آزمایش بر روی راندمان جذب مالاشیت گرین توسط ریزجلبک‌های سبز سندسموس^۴ و کلرلا ارزیابی شد. جلبک‌های سبز سندسموس و کلرلا به علت فراوانی در آب‌های ایران، رشد سریع، تحمل بالای شرایط سخت طبیعی و پرورشی و سطح زیاد به‌ازای واحد وزن برای جذب رنگ انتخاب شدند. این جلبک‌ها در آب‌های آلوده داخلی و پساب‌های شهری شاخص‌اند و به فراوانی یافت می‌شوند [۲۴]. گسترش و آسانی دستیابی به آنها، به کاربردشان در این خصوص و در موارد مشابه می‌افزاید. همچنین در ایران با توجه به رشد روزافزون مراکز صنعتی و کشاورزی مختلف و همچنین با توجه به داشتن منابع متنوع و غنی از جلبک‌ها در منابع آبی داخلی و دریایی، انجام چنین مطالعاتی ضروری به نظر می‌رسد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد شیمیایی مورد استفاده

تمام مواد شیمیایی استفاده شده در این آزمایش دارای درجه آزمایشگاهی بودند. استوک مالاشیت گرین با انحلال ۱۰۰ میلی‌گرم از ماده جامد کریستالی نمک آگزالات مالاشیت گرین محصول شرکت سروا^۵ در آمریکا، در یک لیتر آب مقطر تهیه شد. سایر محلول‌های مورد استفاده در این پژوهش با رقیق‌سازی استوک اولیه مالاشیت گرین، در گستره غلظت‌های مختلف ۰/۱ تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه شد و بلافاصله در آزمایش‌های جذب مالاشیت گرین استفاده شد. مقدار pH اولیه هر محلول مالاشیت گرین قبل از شروع آزمایش، با استفاده از محلول‌های مختلف رقیق شده ۰/۱ تا ۱ مولار اسید سولفوریک و سود تغییر یافته و با pH متر ساخت شرکت متروهم^۶ سوییس اندازه‌گیری و در مقادیر مورد نظر تنظیم شدند.

۲-۲- آماده‌سازی جاذب‌ها

پس از تهیه استوک اولیه مناسب برای کشت انبوه جلبک‌های مورد مطالعه در آزمایشگاه شیلات دانشگاه صنعتی اصفهان، به‌منظور کشت انبوه جلبک‌ها از ۱۰ ظرف ۴ لیتری حاوی آب استریل شده و محیط کشت استفاده شد که برای هرگونه جلبک دو دوره کشت صورت گرفت. برای کشت ریزجلبک‌های سندسموس و کلرلا در این پژوهش از محیط کشت BBM^۷ استفاده شد. شرایط پرورش جلبک‌ها، شامل آب شیرین فیلتر و اتوکلاو شده، دمای ۱±۲۳ درجه سلسیوس، دوره نوری ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی: روشنایی، شدت نور ۶۰ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه، pH آغازین ۶/۹ و اکسیژن محلول بالای ۵ میلی‌گرم در لیتر بود.

در هر دوره کشت، پس از طی ۱۰ روز، در فاز رشد سریع، رشد جلبک‌ها به حداکثر خود رسید. در هر دوره کشت، زی توده جلبک‌ها برای جداسازی از محلول، در تیوب‌های مخصوص ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و توسط دستگاه سانتریفیوژ مدل سنتوریون ساینترفیک Ltd^۸ به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ و متراکم شد. با ادامه این روند برای تمام ظرف‌های کشت، در ظرف‌های مجزای کوچک ۱۰۰ میلی‌لیتری مخلوط تغلیظ شده از هر دو جلبک سندسموس و کلرلا به‌دست آمد. نمونه تغلیظ شده جلبکی برای استفاده بعدی در یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. برای تهیه زی توده خشک، محلول‌های تغلیظ شده

⁵ Serva

⁶ Metrohm/744

⁷ Bold Basal's Medium

⁸ Centurion Scientific Ltd

¹ *Phitophora* sp.

² *Caulerpa racemosa cylindracea*

³ *Chlorella vulgaris*

⁴ *Scenedesmus quadricauda*

ساخت کشور انگلستان در طول موج جذب بیشینه ۶۱۸ نانومتر اندازه‌گیری شد. راندمان جذب مالاشیت گرین در محلول‌های آبی به وسیله زی‌توده جلبکی از رابطه ۱ به دست می‌آید [۲۵]

$$C_f \text{ و } C_i \text{ به ترتیب غلظت‌های اولیه و نهایی مالاشیت گرین بر حسب میلی‌گرم در لیتر و راندمان جذب بر حسب درصد در محلول‌های آبی آزمایش هستند.} \quad (1) \quad \text{راندمان جذب} = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100$$

که در این رابطه C_f و C_i به ترتیب غلظت‌های اولیه و نهایی مالاشیت گرین بر حسب میلی‌گرم در لیتر و راندمان جذب بر حسب درصد در محلول‌های آبی آزمایش هستند.

در این پژوهش، برای جذب مالاشیت گرین از محیط آبی، از زی‌توده مرده کلرلا و سندسموس استفاده شد که قبلاً در شرایط مناسب جداسازی و خشک شده بودند. همچنین، در هنگام آزمایش فقط از شاهد‌های مختلف آب و جلبک، بدون مالاشیت گرین و آب و مالاشیت گرین بدون جلبک، برای کاهش خطای احتمالی آزمایش هنگام فرایند جذب مالاشیت گرین بر سطح زی‌توده کلرلا و سندسموس استفاده شد. تیمارهای شاهد نیز تفاوت معنی‌داری را در غلظت مالاشیت گرین در قبل و بعد مدت آزمایش نشان نداد.

۲-۵- مدل‌سازی سینتیکی جذب زیستی مالاشیت گرین

مدل‌های سینتیکی مختلفی برای بررسی مکانیسم کنترل فرایند جذب مالاشیت گرین بر سطح زی‌توده جلبک‌های سندسموس و کلرلا همچون جذب سطحی، واکنش شیمیایی و مکانیسم انتشار استفاده شد. برای تعیین بهترین سینتیک جذب مالاشیت گرین بر روی زی‌توده‌های جلبکی، سه مدل سینتیکی مختلف، شامل مدل شبه‌درجه اول، شبه‌درجه دوم و انتشار داخل ذره‌ای استفاده شد. فرم خطی رابطه مدل شبه‌درجه اول در رابطه ۱ نشان داده شده است [۲۶]

$$\ln(q_1 - q_t) = \ln q_1 - k_1 t \quad (2)$$

که در این رابطه q_1 و q_t بر حسب میلی‌گرم بر گرم به ترتیب جرم یون‌های مالاشیت گرین جذب شده بر روی جرم زی‌توده جلبکی در زمان تعادل و زمان t بر حسب دقیقه هستند، k_1 ثابت سرعت رابطه بر حسب دقیقه است. همچنین داده‌های آزمایش زی‌توده جلبکی توسط رابطه مدل شبه‌درجه دوم سینتیکی همان‌گونه که در زیر آمده است، ارزیابی شد [۲۷]

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_2^2} + \frac{t}{q_2} \quad (3)$$

در پتری دیش‌های استریل شده ریخته شد و آنها در دمای ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. پس از آن، سلول‌های خشک شده جلبکی، کاملاً خرد شدند و به ذرات کاملاً یکنواختی تبدیل شدند. سپس از زی‌توده‌های آماده شده برای انجام آزمایش‌های جذب زیستی مالاشیت گرین استفاده شد. زی‌توده به دست آمده از هر دو جلبک قبل از آغاز آزمایش‌ها با استفاده از محیط کشت جامد نوترینت آگار (NA) کشت داده شد تا از نبودن سایر ارگانیزم‌ها در آن اطمینان حاصل شود.

۲-۳- طرح آماری رویه‌های پاسخ^۱ برای آزمایش‌های جذب زیستی

چهار متغیر اصلی غلظت اولیه مالاشیت گرین ۲، ۶ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، pH اولیه محلول حاوی مالاشیت گرین به میزان ۳، ۴/۵ و ۶ وزن زی‌توده جلبک‌ها به میزان ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر و مدت زمان انجام آزمایش ۱۰، ۵۰ و ۹۰ دقیقه، برای بررسی مقدار تأثیرگذاری بر راندمان جذب مالاشیت گرین توسط کلرلا و سندسموس انتخاب شدند. برای بررسی تأثیر هم‌زمان متغیرهای محیطی بر روی راندمان جذب زیستی، مالاشیت گرین در سه سطح پایین، برابر با ۱- متوسط، برابر با صفر و بالا، برابر با ۱+ از طرح آماری رویه‌های پاسخ و به شیوه باکس-بنکن^۲ استفاده شد. در این طرح آماری، برای انجام آزمایش جذب زیستی، مالاشیت گرین با چهار متغیر اصلی در سه سطح معین شده، در مجموع ۲۹ آزمایش توسط نرم‌افزار آماری دیزاین اکسپرت^۳ پیشنهاد شد.

۲-۴- نحوه انجام آزمایش‌های جذب زیستی

تمامی آزمایش‌های جذب زیستی در دمای 26 ± 2 درجه سلسیوس بر روی شیکر مدل sk-330-pro، محصول شرکت دراگون آلمان^۴ با سرعت ۱۳۵ دور بر دقیقه انجام شد. واحدهای آزمایش، ارلن‌مایرهای ۱۰۰ میلی‌لیتری بودند. مطالعات جذب مالاشیت گرین با مقادیر مختلفی از زی‌توده‌های جلبکی یعنی ۲، ۴ و ۶ میلی‌گرم در ۵۰ میلی‌لیتر محلول شامل ۲، ۶ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر مالاشیت گرین در مقادیر pH اولیه محلول ۳، ۴/۵ و ۶ و زمان‌های آزمایش ۱۰، ۵۰ و ۹۰ دقیقه، با دو بار تکرار انجام شد. در پایان هر یک از زمان‌های از پیش تعیین شده، محلول‌های نهایی از میکروفیلترهای غشایی ۰/۲ میکرون عبور کرده و میزان جذب محلول فیلتر شده باقی‌مانده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر جنوی^۵

¹ Response Surface Methodology

² Box-Behnken

³ Design Expert 8.0.4, Stat-Ease, Inc., Minneapolis, USA

⁴ Dragon LAB, Germany

⁵ Jenway 6400

که در این رابطه

k_2 ثابت سرعت رابطه درجه دوم برحسب گرم بر میلی گرم در دقیقه، q_1 میلی گرم مالا شیت گرین جذب شده بر گرم زی توده جلبکی در زمان t برحسب دقیقه و q_2 میلی گرم مالا شیت گرین جذب شده بر گرم زی توده جلبکی، در زمان تعادل برحسب دقیقه است.

معمولاً مدل های سینتیکی مختلفی به طور پیوسته برای تجزیه و تحلیل عامل و یا عوامل کنترل کننده و محدود کننده سرعت واکنش جذب مواد مختلف بر روی سطح جاذب های زیستی استفاده می شوند. از این رو برای بررسی بیشتر و دقیق تر این موضوع از مدل دیگری موسوم به مدل انتشار داخل ذره ای استفاده شد [۲۸]

$$q = k_{id}t^{0.5} + c \quad (4)$$

که در این رابطه

q میلی گرم مالا شیت گرین جذب شده بر هر گرم زی توده جلبکی در زمان t برحسب دقیقه، c عرض از مبدأ رابطه و k_{id} ثابت سرعت انتشار داخل ذره ای برحسب میلی گرم بر گرم در جذر زمان است.

مالا شیت گرین را تا نهایت ظرفیت خود جذب کرده بودند، تهیه شد. نمونه ها توسط آب مقطر چندین بار برای حذف اتصالات ضعیف بین مالا شیت گرین و گروه های عاملی در سطح جاذب زیستی جلبکی و همچنین ناخالصی های احتمالی دیگر شستشو شدند. سپس زی توده های کنترل و آزمایش شده در دمای ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت در آون خشک شد. نمونه های خشک شده با برمید پتاسیم مخلوط و نمونه ها در کف هاون برای تهیه قرص مخصوص پخش شدند. پیک های حاصل شده از برمید پتاسیم، به صورت اتوماتیک از پیک های اصلی مربوط به جاذب های جلبکی کنترل و آزمایش شده توسط دستگاه کم شدند. سپس تمام طیف های FT-IR به دست آمده از دستگاه برای بررسی چگونگی برهم کنش واکنش جذب مالا شیت گرین و میزان نقش گروه های مختلف در سطح جاذب های جلبکی سندسموس و کلرلا در فرایند جذب زیستی مالا شیت گرین ترسیم شدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تأیید صحت مدل

آنالیز چند جمله ای^۳ درجه دوم و مدل کوادراتیک^۴ به عنوان بهترین مدل برای یافتن رابطه بین متغیرهای اصلی و راندمان جذب مالا شیت گرین به کار گرفته شد. جدول آنالیز واریانس^۵ برای راندمان جذب مالا شیت گرین توسط ریزجلبک های سبز سندسموس و کلرلا، برای تأیید اعتبار مدل استفاده شد (جدول ۱).

۲-۶- تجزیه و تحلیل طیف نورسنجی مادون قرمز^۱ تجزیه و تحلیل های FT-IR در گستره ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ بر سانتی متر، توسط دستگاه اسپکترومتر مخصوص جاسکو^۲ ساخت کشور ژاپن، به دقت ارزیابی شد. به منظور انجام این آزمایش، واکنش جذب زیستی برای تهیه جاذب جلبکی برای آزمایش FT-IR صورت گرفت. در پایان، دو جاذب جلبکی کنترل و دو جاذب جلبکی که

³ Polynomial Analysis
⁴ Quadratic Model
⁵ ANOVA

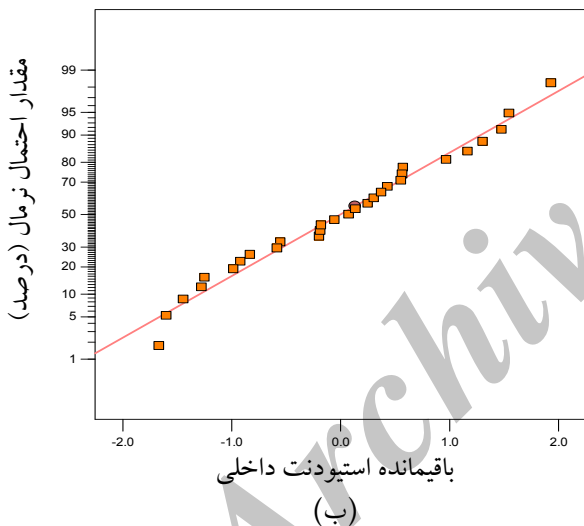
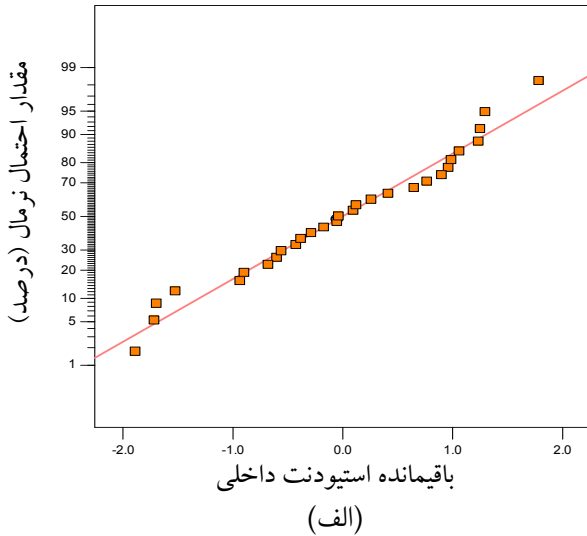
¹ Fourier Transform Infra Red (FT-IR)
² Jasco 680

جدول ۱- تجزیه و تحلیل واریانس، برای جذب مالا شیت گرین توسط ریزجلبک های سبز سندسموس و کلرلا

مقدار P	مقدار F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	منبع تغییرات	زی توده
<۰/۰۰۰۱	۱۲۱/۶۲	۲۴۹/۴۶	۱۴	۳۴۹۲/۵۱	مدل آزمایش	سندسموس
		۲/۰۵	۱۴	۷۲/۲۸	باقیمانده	
۰/۶۷۴۴	۰/۷۵	۱/۸۸	۱۰	۱۸/۷۶	LoF*	
		۲/۴۹	۴	۹/۹۵	خطای خام	
			۲۸	۳۵۲۱/۲۲	کل	
<۰/۰۰۰۱	۱۵۵/۱۳	۲۹۰/۹۱	۱۴	۴۰۷۲/۸۰	مدل آزمایش	کلرلا
		۱/۸۸	۱۴	۲۶/۲۵	باقی مانده	
۰/۷۱۷۱	۰/۶۸	۱/۶۵	۱۰	۵۴/۱۶	LoF*	
		۲/۴۳	۴	۷۱/۹	خطای خام	
			۲۸	۴۰۹۹/۰۵	کل	

* Lack-of-Fit

یک از این ضرایب مقدار کمیّت و کیفیت تأثیرگذاری متغیرهای رابطه درجه دوم (اثرات خطی تکی، غیرخطی تکی و اثرات دوتایی) را بر راندمان جذب مالا شیت گرین توسط ریز جلبک‌های سبز سندسموس و کلرلا توصیف می‌کند.



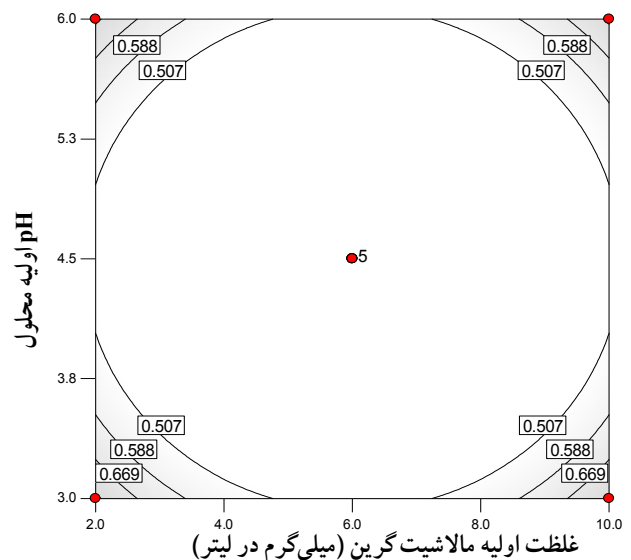
شکل ۲- مقدار احتمال نرمال برحسب درصد، نسبت به باقیمانده استیوندت داخلی برای راندمان جذب مالا شیت گرین الف- توسط ریز جلبک سبز سندسموس و ب- ریز جلبک سبز کلرلا

۳-۲- بهینه‌سازی فرایند جذب زیستی مالا شیت گرین در بهینه‌سازی عددی، ابتدا باید اهداف مورد انتظار برای هر چهار متغیر فرایند و متغیر پاسخ یعنی راندمان جذب، تعیین شود. اهداف ممکن برای انتخاب از لیست مورد نظر شامل مقادیر کمیته یکی از سطوح آزمایش، بیشینه در گستره آزمایش، هیچکدام (فقط برای تابع) و تعیین مقدار دلخواه خارج از سطح آزمایش (فقط برای متغیرهای فرایند) هستند. همچنین به میزان اهمیت هر یک از

مقادیر F-value مدل‌ها برای آنالیز واریانس ریز جلبک‌های سبز سندسموس و کلرلا به ترتیب ۱۲۱/۶۲ و ۱۵۵/۱۳ به دست آمد که در سطح احتمال ۵ درصد از F-value جدول بزرگ‌تر بود. از سوی دیگر مقادیر P-value مدل‌ها برای هر دو زی توده جلبکی کوچک‌تر ۰/۰۰۱ بود و چون این مقدار از مقدار ۰/۰۵ همچنین کوچک‌تر بود، از این رو بیانگر معنی‌داری مدل‌ها بودند. همچنین مقادیر P-value بزرگ‌تر از ۰/۰۵، برای هر دو ریز جلبک سبز برای منبع تغییر مهم LoF شاخصی برای تأیید دقت بالای مدل، در پیش‌بینی مقادیر تخمینی برای هر آزمایش است. به عبارت دیگر LoF بی‌معنی بیان می‌کند که فاصله بین مقادیر واقعی و تخمینی ناچیز است. دقت بالای انجام آزمایش‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است. مطابق شکل، خطای استاندارد طرح بین مقادیر حداقل ۰/۴۲۲ و حداکثر ۰/۷۶۴ به دست آمد.

باقیمانده استیوندت داخلی، یعنی تفاضل بین مقادیر واقعی و پیش‌بینی شده برای راندمان حذف مالا شیت گرین، به منظور بررسی یکنواختی فرض واریانس، از راه ترسیم منحنی باقیمانده‌های استیوندت داخلی، نسبت به مقادیر احتمالی پیش‌بینی شده ارزیابی شدند. یکنواختی پخش شدن داده‌ها در اطراف خط (تفاضل برابر صفر) بیانگر تناسب خوب مدل با داده‌های آزمایش است (شکل ۲).

مقادیر F-value بزرگ‌تر و P-value کوچک‌تر، برای هر یک از ضرایب، دلالت بر معنی‌دارتر بودن است [۲۹]. از طرف دیگر هر



شکل ۱- خطای استاندارد طرح، برای اثر متقابل غلظت اولیه مالا شیت گرین و pH محلول اولیه (مقدار زی توده جلبک و زمان آزمایش در سطح صفر)

فاکتورها، از کم اهمیت تا مهم ترین، قابلیت وزن دهی دارد. در این مطالعه، به تمامی اهداف، وزن متوسط داده شد. سپس تمام اهداف در یک تابع مطلوبیت کل ادغام شدند. تابع مطلوبیت تابعی است که دامنه آن از مقدار صفر (خارج از محدوده) تا یک (هدف دلخواه) است. به عبارت دیگر پس از تخمین مقدار بهینه توسط این تابع، هرگاه مقدار تابع مطلوبیت کل (D) نزدیک تر به عدد یک باشد، پیش بینی دقیق تر و صحیح تر است. تابع مطلوبیت کل عبارت است از متوسط هندسی وزن دهی شده از تمام توابع انفرادی (df) و بر اساس رابطه ۵ به دست می آید [۳۰]

$$D = \sqrt[m]{d_1(y_1) \times d_2(y_2) \times \dots \times d_n(y_n)} \quad (5)$$

که در این رابطه

m تعداد توابع مطلوبیت انفرادی در فرایند بهینه سازی است. بر این اساس، از یک شیوه تابع چندگانه (D) برای بهینه سازی هر یک از پنج هدف استفاده شد. این پنج هدف شامل غلظت اولیه مالاشیت گرین، مقدار pH اولیه محلول، زی توده جلبکی، زمان انجام آزمایش و راندمان جذب مالاشیت گرین بودند. بنابراین اهداف مورد نظر برای آنها، شامل مقدار کمینه برای غلظت اولیه مالاشیت گرین، مقدار متوسط برای زی توده جلبک ها و هدف در کل گستره آزمایش، ۳ تا ۶ و ۱۰ تا ۹۰ دقیقه به ترتیب برای مقدار pH اولیه محلول و زمان انجام آزمایش و مقدار بیشینه برای راندمان جذب مالاشیت گرین در نظر گرفته شد.

بیشینه راندمان جذب مالاشیت گرین توسط ریز جلبک سبز سندسموس و کلرلا در شرایطی به دست آمد که مقدار pH اولیه محلول ۶، زمان تماس جاذب - آلاینده ۸۳ دقیقه برای ریز جلبک سبز سندسموس و زمان ۹۰ دقیقه برای ریز جلبک سبز کلرلا به دست آمد. مقدار زی توده جلبکی ۸۰ میلی گرم در لیتر و غلظت اولیه محلول ۲ میلی گرم در لیتر بودند. در این شرایط بهینه، راندمان جذب مالاشیت گرین به ترتیب ۷۶/۲۳ و ۹۱/۳۲ درصد برای زی توده های جلبکی سندسموس و کلرلا پیش بینی شدند (جدول ۲). مقادیر تابع مطلوبیت کل نزدیک عدد یک، بیانگر این است که مقدار پیش بینی شده برای ریز جلبک سبز سندسموس و کلرلا بسیار نزدیک به هدف مورد نظر را، تخمین زده است.

در این پژوهش غلظت اولیه مالاشیت گرین به دست آمده برای هر دو جلبک، یکسان بود. گمان می شود که تفاوت موجود در راندمان جذب، به لحاظ تفاوت های موجود در ساختار پلیمرهای زیستی خارج دیواره سلولی این دو جلبک سبز است که مکان های اتصال رنگی متفاوتی را ایجاد می نماید. از این رو قدرت کشش بیشتری در اثر نیروی جاذبه و توان حفظ بالاتر پیوند تشکیل شده را در شرایط مختلف در طول زمان آزمایش نشان دادند [۳۱].

با توجه به اینکه تمامی زی توده های جلبکی مقدار pH ایزوالکتریک یعنی pH ای که در آن بار سطحی جلبک صفر است، حدود ۳ تا ۴ دارند، بنابراین در pH کمتر از این مقدار به علت افزایش مقدار یون های مالاشیت گرین و ترکیب آن ها با سطح جاذب، بار سطحی جاذب مثبت می شود [۳۲]. با افزایش pH اولیه بیشتر از مقدار pH ایزوالکتریک، به علت کاهش یون های H^+ و افزایش یون های OH^- بار سطحی جاذب های جلبکی به سمت بارهای منفی تغییر می کند. در واقع افزایش pH اولیه محلول، بر میزان یونیزاسیون مالاشیت گرین تأثیر منفی می گذارد، به طوری که با افزایش pH اولیه محلول، از مقدار تفکیک یون های مثبت به علت انحلال کاسته شده که این امر خود تأثیر منفی بر راندمان جذب دارد [۱۴]. این ترکیب در pH های ۴، ۶/۹، ۷/۴ و ۱۰/۱ به ترتیب دارای ۱۰۰، ۵۰، ۲۵ و صفر درصد از فرم یونی خود در محلول است. بنابراین با افزایش pH اولیه محلول بیشتر از ۶/۹ که در واقع pK_a مالاشیت گرین است، با وجود افزایش بار منفی بر سطح جاذب، از میزان یونیزاسیون آن و به دنبال آن راندمان جذب مالاشیت گرین، کاسته می شود [۳۳].

افزایش زی توده جلبکی بیش از حد بهینه، سبب می شود تا مقدار زی توده بیشتر از حد قابل دسترس باشد و این انباشتگی موجب برخورد ذرات زی توده جلبک با همدیگر، به جای برخورد با مولکول رنگ و جذب آن می شود که در واقع سبب اتلاف انرژی موجود در محلول، برای جذب رنگ می شود. از طرف دیگر مانعی برای برقراری برخوردهای مؤثر بین مولکول های مالاشیت گرین و مکان های اتصال روی زی توده جلبکی می شود. این آشفتگی بی نظمی در محلول مالاشیت گرین در مقادیر بیش از حد بهینه زی توده جلبکی، موجب افزایش طول مسیر انتشار و کاهش سطح

جدول ۲- بهترین سطوح متغیرهای فرایند و بیشینه راندمان جذب مالاشیت گرین توسط ریز جلبک های سبز سندسموس و کلرلا

زی توده	غلظت اولیه (میلی گرم در لیتر)	pH محلول	زی توده جلبک (میلی گرم در لیتر)	زمان آزمایش (دقیقه)	راندمان جذب (درصد)	تابع مطلوبیت
سندسموس	۲/۰۰	۶/۰۰	۸۳/۶۸	۸۳/۰۰	۷۶/۲۳	۱/۰۰۰
کلرلا	۲/۰۰	۶/۰۰	۸۰/۰۰	۹۰/۰۰	۹۱/۳۲	۱/۰۰۰

مؤثر جاذب برای جذب مولکول‌های مالاشیت‌گرین می‌شود و مولکول‌های مالاشیت‌گرین سخت‌تر و کمتر به سطح زی‌توده انتقال یافته و متصل می‌شوند [۱۹ و ۲۵].

۳-۳- مدل‌سازی سینتیک جذب زیستی مالاشیت‌گرین

برای بررسی سینتیک جذب زیستی مالاشیت‌گرین توسط ریزجلبک سبز سندسموس و کلرلا، سه مدل سینتیکی شامل مدل‌های شبه‌درجه اول، شبه‌درجه دوم و انتشار داخل ذره‌ای برای بررسی تبعیت داده‌ها از این مدل‌ها به‌کار گرفته شد. میزان نقش و کاربرد هر یک از مدل‌ها برای داده‌های آزمایش به‌دست آمده با توجه به ضریب تعیین هر یک از مدل‌های سینتیکی به‌کار رفته تعیین می‌شود (جدول ۳).

در مدل شبه‌درجه اول، پس از ترسیم منحنی آن مشاهده شد که میزان همبستگی بین داده‌های آزمایش شده و پیش‌بینی شده توسط این مدل ۰/۹۵ برای سندسموس و ۰/۸۶ برای کلرلا به‌دست آمد. این مقادیر همان‌گونه که در جدول ۳ آمده است، همبستگی ضعیفی را بین داده‌های به‌دست آمده از آزمایش و پیش‌بینی شده توسط مدل نشان می‌دهد. مقادیر k_1 و q_1 به‌دست آمده از این مدل، ۰/۱۱۵ بر دقیقه و ۳۹/۲۱ میلی‌گرم بر گرم برای ریزجلبک سبز سندسموس و ۰/۰۷۲ بر دقیقه و ۳۲/۸۵ میلی‌گرم بر گرم برای ریزجلبک سبز کلرلا بودند.

مقادیر همبستگی به‌دست آمده برای داده‌های آزمایش شده در شرایط بهینه از سطوح متغیرهای اصلی فرایند جذب، در مدل شبه‌درجه دوم برای هر دو ریزجلبک مقدار ۰/۹۹ به‌دست آمد. بر این اساس، می‌توان بیان کرد که به‌طور غالب مکانیسم جذب زیستی مالاشیت‌گرین بر سطح زی‌توده هر دو ریزجلبک سبز، از مدل شبه‌درجه دوم سینتیک تبعیت می‌کند. این تناسب بالا بین داده‌های آزمایش و داده‌های پیش‌بینی شده توسط مدل در شکل ۳ به‌خوبی نشان داده شده است. علاوه بر این، تناسب نداشتن داده‌های به‌دست آمده از آزمایش با مدل شبه‌درجه اول نیز به‌روشنی قابل مشاهده

است. همچنین طبق این مدل، ثابت‌های k_2 و q_2 محاسبه شدند که به ترتیب ۰/۰۰۳ گرم بر میلی‌گرم در دقیقه و ۵۸/۸۲ میلی‌گرم بر گرم برای سندسموس و ۰/۰۰۱ گرم بر میلی‌گرم در دقیقه و ۷۶/۹۲ میلی‌گرم بر گرم برای کلرلا بودند.

مدل مورد استفاده برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، مدل انتشار داخل ذره‌ای بود که داده‌های آزمایش با مدل سینتیکی انتشار داخل ذره‌ای، همبستگی نداشت. مقادیر همبستگی پایین ۰/۶۶ برای ریزجلبک سبز سندسموس و ۰/۷۵ برای ریزجلبک سبز کلرلا به‌دست آمد. مقادیر پایین ضریب تعیین بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار بین داده‌های آزمایش و پیش‌بینی شده است. ثابت‌های k_{id} و C برای ریزجلبک سبز سندسموس به ترتیب ۵/۰۵ گرم بر میلی‌گرم جذر دقیقه و ۱۷/۳۷ و برای ریزجلبک سبز کلرلا به ترتیب ۶/۵۷ گرم بر میلی‌گرم در جذر دقیقه و ۱۴/۸۲ بود.

نتایج به‌دست آمده در این پژوهش مطابق با جذب مالاشیت‌گرین توسط جلبک آب شور^۱ در پژوهش بکی و همکاران است [۲۲]. آنها نشان دادند که با افزایش زمان در آغاز واکنش جذب، به سرعت راندمان جذب افزایش می‌یابد به‌طوری که تقریباً مقدار عمده مالاشیت‌گرین در ۱۲۰ دقیقه اول از شروع آزمایش، بر روی جلبک جذب شد و پس از آن با گذشت زمان تا ۴۰۰ دقیقه، بقیه جذب ادامه یافت، تا به مقدار حداکثر جذب مالاشیت‌گرین در زمان تعادل جذب توسط زی‌توده جلبکی دست یابد [۲۲]. همچنین در پژوهشی بر روی جذب مالاشیت‌گرین از محلول آبی با استفاده از جلبک سبز فیتوفورا، مشخص شد که قسمت عمده جذب در ۶۰ دقیقه اول به مقدار ۷۵ تا ۸۵ درصد رخ می‌دهد و در زمان باقیمانده تا انتهای زمان جذب، بقیه مقادیر مالاشیت‌گرین در مدت ۱ تا ۲ ساعت تا رسیدن به زمان تعادل ۲ تا ۳ ساعت جذب شد [۱۸]. مدل‌سازی سینتیک داده‌ها با آنچه که به‌دست آمده بود به‌روشنی نشان داد که سینتیک واکنش از مدل شبه‌درجه دوم

¹ *Caulerpa racemosa*

جدول ۳- پارامترهای سینتیکی به‌دست آمده از مدل‌های شبه‌درجه اول، شبه‌درجه دوم و انتشار داخل ذره‌ای برای جذب مالاشیت‌گرین توسط

ریزجلبک‌های سبز سندسموس و کلرلا

زی‌توده	مدل شبه‌درجه اول			مدل شبه‌درجه دوم			مدل انتشار داخل ذره‌ای		
	R^2	q_1	$k_1 \times 10^1$	R^2	q_2	$k_2 \times 10^2$	R^2	C	k_{id}
سندسموس	۰/۹۵	۳۹/۲۱	۱/۱۵	۰/۹۹	۵۸/۸۲	۰/۳۴	۰/۶۶	۱۷/۷	۵/۰۵
کلرلا	۰/۸۶	۳۲/۸۵	۰/۷۲	۰/۹۹	۷۶/۹۲	۰/۱۴	۰/۷۵	۱۴/۸۲	۶/۵۷

k_1 ثابت مدل شبه‌درجه اول برحسب بردقیقه، q_1 ظرفیت جذب طبق مدل شبه‌درجه اول برحسب میلی‌گرم بر گرم، k_2 ثابت مدل شبه‌درجه دوم برحسب گرم بر میلی‌گرم در دقیقه، q_2 ظرفیت جذب طبق مدل شبه‌درجه دوم برحسب میلی‌گرم بر گرم و k_{id} ثابت مدل انتشار داخل ذره‌ای برحسب گرم بر میلی‌گرم در جذر دقیقه است.

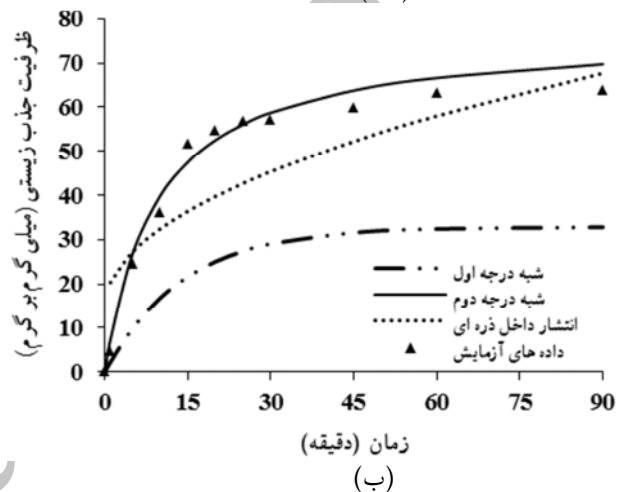
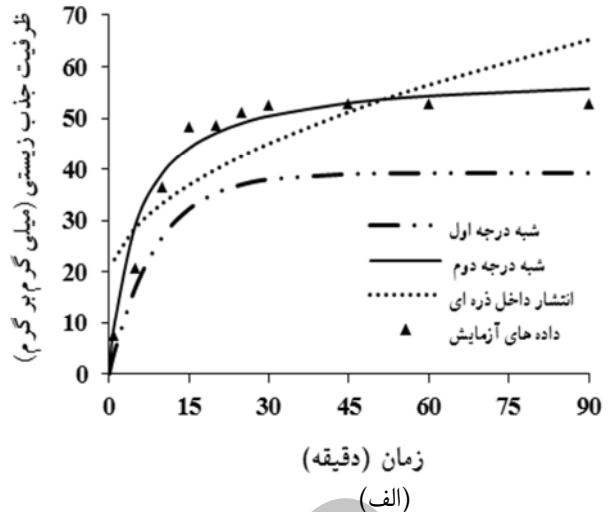
یون‌های موجود در سطح جاذب با یون‌های مالاشیت‌گرین صورت می‌گیرد [۲۳].

مکانیسم جذب مالاشیت‌گرین پیچیده‌تر از یک جذب تک‌لایه‌ای بر سطح زی توده جلبک است. به طوری که مولکول‌های رنگی مالاشیت‌گرین پس از اینکه تمامی مکان‌های سطحی را اشغال کردند، برای اتصال به جایگاه‌های درونی‌تر به داخل جاذب نفوذ می‌کنند. در نتیجه اثرات متقابل بین آنها با جایگاه درونی‌تر و پنهانی، سرانجام متصل می‌شوند؛ اما در این مرحله، انتشار مولکول‌های مالاشیت‌گرین به داخل زی توده جلبکی برای اتصال با مکان‌های اتصال پنهانی، بسیار کندتر و سخت‌تر از انتشاری است که در مرحله اول جذب با سرعت بالا بین مولکول‌های مالاشیت‌گرین و سطح خارجی بیومس متصل می‌شود. مولکول‌های رنگی مالاشیت‌گرین برای نفوذ به درون زی توده برای اتصال با مکان‌های پیوند پنهانی، باید از یک طرف بر نیروی دافعه مولکول‌های رنگی جذب شده بر سطح جلبک غلبه کرده و از سوی دیگر بر ممانعت‌های فضایی پدید آمده برای حرکت مولکول مالاشیت‌گرین برای نفوذ و اتصال به درون ساختار جاذب چیره شوند، بنابراین یک شکست در منحنی سرعت واکنش جذب رخ می‌دهد که بیانگر ورود فرایند جذب به مرحله کند دوم واکنش جذب مالاشیت‌گرین است [۱، ۳۴ و ۳۵]. این فرایند نسبت به مرحله اول بیشتر زمان‌بر است و تا رسیدن به زمان تعادل، یعنی ۹۰ دقیقه، ادامه می‌یابد.

۳-۴- تجزیه و تحلیل طیف FT-IR

روش اسپکتروسکوپی FT-IR برای یافتن اطلاعاتی درباره برهمکنش‌های ممکن رخ داده بین گروه‌های عاملی، در سطح زی توده جلبک‌های سبز سندسموس و کلرلا و بخش‌های باردار و فعال روی یون‌های مالاشیت‌گرین استفاده شد. گستره FT-IR به دست آمده از قبل و بعد فرایند جذب زیستی در شرایط بهینه از سطوح متغیرهای اصلی در شکل ۴ ارائه شده است.

یک نوسان وسیع و عمیق در گستره ۳۰۰۰ تا ۳۶۰۰ بر سانتی‌متر از طیف FT-IR در ریزجلبک سبز سندسموس و کلرلا مشاهده شد که نشان دهنده حضور گسترده گروه‌های عاملی هیدروکسیل و آمین در ساختار زی توده‌های جلبکی است. همچنین پیک‌های مشاهده شده در گستره ۲۸۴۰ تا ۲۹۹۰ بر سانتی‌متر، نشانه وجود پیوندهای متقارن و نامتقارن C-H در گروه‌های آلیفاتیکی در سطح جاذب‌های جلبکی است. پیک‌های قوی مشاهده شده در ۱۶۳۲ و ۱۶۳۸ بر سانتی‌متر نشانگر فراوانی گروه عاملی کربوکسیل در ساختار دیواره زی توده‌های جلبکی مورد مطالعه است. پیک‌های مشخص شده در ۱۴۵۳ و ۱۴۵۸ بر سانتی‌متر مربوط به پیوندهای N-H بوده و پیک‌های ۱۳۱۸، ۱۳۲۰ و ۱۳۸۴



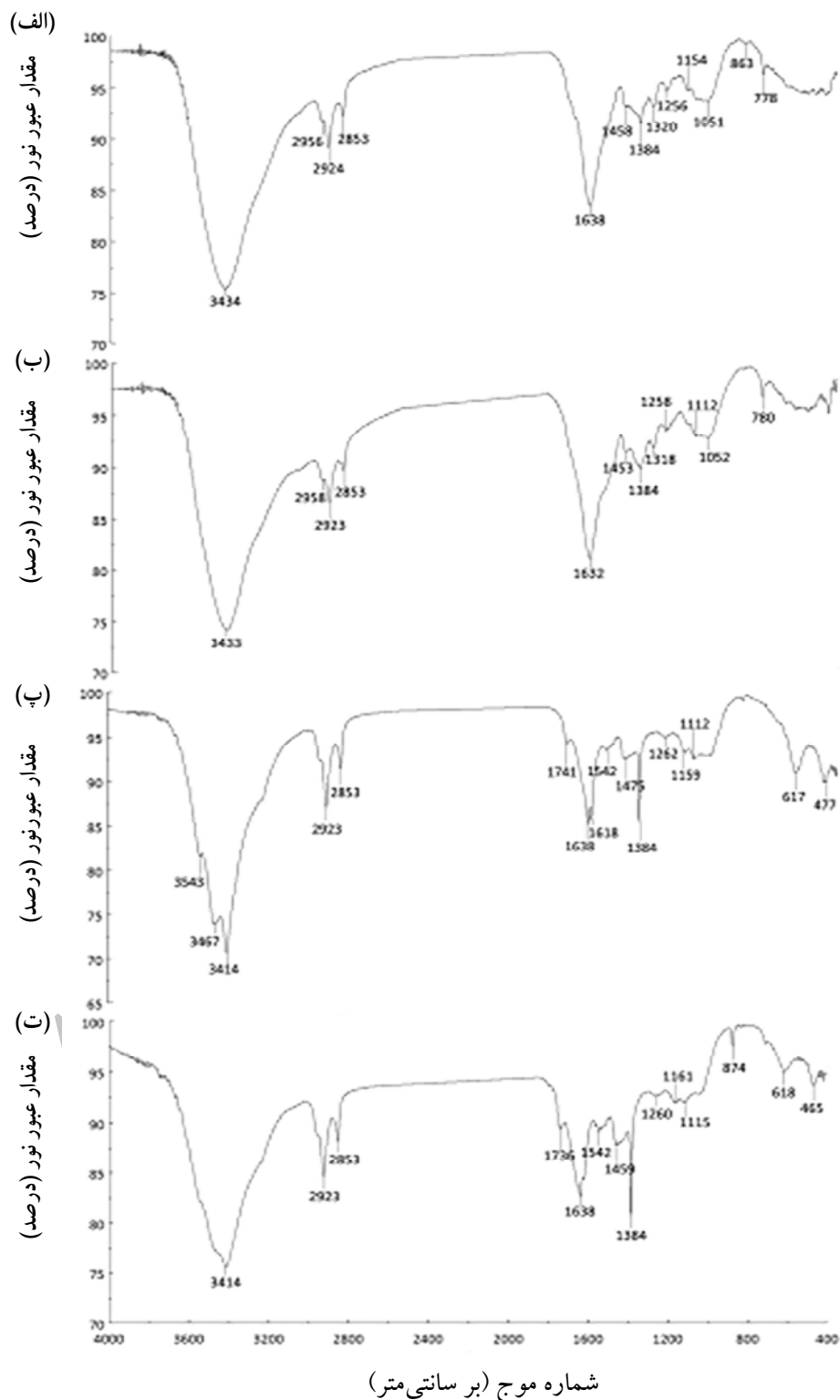
شکل ۳- سینتیک جذب زیستی مالاشیت‌گرین الف- توسط ریز جلبک سبز سندسموس و ب- ریز جلبک سبز کلرلا

تبعیت می‌کند که با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر مطابقت دارد. پیروی جاذب‌های زیستی از مدل شبه‌درجه دوم در قریب به اکثر موارد برای زی توده استفاده شده صدق می‌کند که به علت رفتار دو مرحله‌ای مولکول‌های مختلف برای جذب شدن بر سطح زی توده‌های زیستی است.

به عبارت دیگر، فرایند جذب مالاشیت‌گرین بر سطح جاذب‌های زیستی، معمولاً از دو فاز متفاوت تند و کند، قبل از رسیدن به تعادل پیروی می‌کند. به این صورت که در آغاز فرایند جذب مالاشیت‌گرین، در طی ۳۰ دقیقه اول فرایند، جذب با سرعت بسیار زیادی رخ می‌دهد. بر اساس مدل، می‌توان پیشنهاد نمود که مرحله اول جذب، بسیار سریع است. فرایند توسط یک مکانیسم شیمیایی کنترل می‌شود. به عبارت دیگر از آغاز آزمایش تا زمانی که یک لایه خارجی از تمام مکان‌های اتصال فعال، در سطح جاذب اشغال شوند، فرایند جذب به صورت تبادل یونی بین

هستند. همچنین این باندهای ضعیف، بیانگر ساختار لیگنینی در دیواره زی توده جلبک‌های سبز سندسموس و کلرلا هستند که در شکل ۴- الف و ب مشخص است [۳۶ و ۳۷].

بر سانتی‌متر متعلق به پیوندهای N=O موجود در سطح جاذب هستند. باندهای مشاهده شده در ۱۰۱۵ تا ۱۲۷۳ بر سانتی‌متر نشان‌دهنده حضور پیوندهای C-O الکی و کربوکسیلیک اسیدی



شماره موج (بر سانتی‌متر)
 شکل ۴- طیف نورسنجی مادون قرمز برای الف- زی توده سندسموس، ب- کلرلا، پ- سندسموس با مالاشیت گرین جذب شده و ت- کلرلا با مالاشیت گرین جذب شده

مقایسه طیف FT-IR بین زی توده‌های جلبکی خالص با نوع آزمایش شده، تفاوت و تغییرات چشمگیری را نشان داد (شکل ۴- پ و ت). جابه‌جایی پیک در طیف مادون قرمز از ۳۴۳۳ تا ۳۴۳۴ بر سانتی‌متر به ۳۴۱۴ بر سانتی‌متر نشان دهنده اتصال مالاشیت گرین با گروه‌های عاملی هیدروکسیل و آمین است. ناپدید شدن پیک‌های ۲۹۵۸ و ۲۹۵۶ بر سانتی‌متر، بیانگر درگیری این مناطق طی فرایند جذب زیستی است. دو پیک ۱۷۴۱ بر سانتی‌متر برای سندسموس و پیک ۱۷۳۲ بر سانتی‌متر برای کلرلا در طیف‌های پس از واکنش جذب پدید آمدند که به نحوی نشان دهنده انباشتگی زی توده از مالاشیت گرین است. جابه‌جایی پیک از ۱۶۳۲ بر سانتی‌متر به ۱۶۳۸ بر سانتی‌متر در سندسموس، ۱۶۳۸ بر سانتی‌متر به ۱۶۱۸ بر سانتی‌متر در کلرلا بیانگر درگیری بالای گروه کربوکسیل در جذب کاتیون‌های مالاشیت گرین است. پیک‌های ۱۰۵۱ تا ۱۰۵۲ بر سانتی‌متر پس از جذب ناپدید شد. همچنین پیک‌های مشاهده شده در زیر ۱۰۰۰ بر سانتی‌متر نیز تغییرات زیادی را نشان دادند که نشانگر درگیری کاتیون‌های مالاشیت گرین با پیوندهای شیمیایی حاوی نیتروژن در پلیمرهای زیستی است [۳۸].

نتایج نشان داد که گروه‌های عاملی مختلفی، در سطح زی توده ریزجلبک سبز سندسموس و کلرلا قرار دارند که در فرایند جذب زیستی مالاشیت گرین و برقراری اتصالات یونی جاذب-آلاینده از اهمیت بالایی برخوردارند. علاوه بر این، تفاوت مشاهده شده در راندمان‌های جذب زیستی مالاشیت گرین بین دو ریزجلبک، می‌تواند به خاطر تفاوت در نحوه تداخل مولکول‌های رنگی و زی توده‌های جلبکی باشد.

آزمایش‌های جذب زیستی مالاشیت گرین با استفاده از گیاه آبی‌غلف تمساح، تأثیر پارامترهای فرایند از قبیل pH اولیه محلول، زمان تعادل، مقدار گیاه آبی‌غلف و قدرت یونی بر روی توانایی جذب مالاشیت گرین ارزیابی شد [۳۹]. نتایج نشان دادند که فرایند جذب زیستی مالاشیت گرین توسط گیاه آبی‌غلف تمساح به شدت وابسته به pH اولیه محلول حاوی مالاشیت گرین است و در مقدار pH اولیه ۶ بیشترین مقدار جذب را نشان داد. جذب سطحی مالاشیت گرین توسط بیومس علف تمساح با دو اندازه مختلف، از زی توده علف تمساح و به صورت پودر شده در زمان ۲۴۰ دقیقه به تعادل نهایی رسید. علاوه بر آن، مدل انتشار داخل ذره‌ای نیز نقش مهمی در فرایند جذب مالاشیت گرین نشان می‌دهد و از عوامل کنترل کننده سرعت واکنش جذب محسوب می‌شود. گیاه علف تمساح خشک شده در دمای ۲۰ درجه سلسیوس و سایر شرایط بهینه محیطی، ظرفیت جذب زیستی ۱۸۵/۵۴ میلی‌گرم مالاشیت گرین بر گرم جاذب را به دست آورد [۳۹].

آزمایش‌هایی برای جذب مالاشیت گرین توسط مخمر نان زنده ساکاروماسیس سرویسیه^۱ نیز انجام شده است [۴۰]. در طول آزمایش جذب، پس از گذشت ۷ ساعت از تماس مالاشیت گرین با مخمر نان، مقدار ۸۵ درصد از مقدار اولیه رنگ جذب شد و این در حالی بود که وقتی به محلول رنگی حاوی مخمر نان، ۵ درصد گلوکز اضافه شد، راندمان حذف مالاشیت گرین به مقدار قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت و به ۹۵/۵ درصد رسید. همچنین نتایج این آزمایش نشان داد که جذب مالاشیت گرین از محلول آبی تابع پارامترهای مختلفی چون غلظت اولیه رنگ، غلظت سلول‌های مخمر نان، ترکیب شیمیایی محلول حاوی سلول‌های زنده مخمر و سرعت همزدن مخلوط واکنش است [۴۰].

در مطالعه دیگر، جذب زیستی مالاشیت گرین با زی توده گیاه آبی‌غلف و ریزجلبک هیدریلا ورتیکلیتا^۲ بررسی شده است [۴۱]. تأثیر پارامترهای مختلفی چون دما، مقدار زی توده، زمان تماس و اندازه ذرات بیومس و سرعت همزدن مخلوط واکنش، بر روی ظرفیت جذب زیستی مالاشیت گرین با استفاده از طرح آزمایش رویه‌های پاسخ بررسی شد. نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که مدل پیشنهادی درجه دوم به خوبی می‌تواند نتایج آزمایش را تفسیر کند. بر اساس مدل پیشنهادی شرایط بهینه پارامترهای آزمایش به دست آمدند. بنابراین بهترین سطوح متغیرهای اصلی، شامل دما ۴۳/۵ درجه سلسیوس، مقدار گیاه ۰/۲۶ گرم، اندازه ذره بیومس ۰/۲۰۵ میلی‌متر، زمان تعادل واکنش ۲۰۰ دقیقه و سرعت همزدن ۲۳۰ دور در دقیقه بودند. علاوه بر این، مقدار حداکثر جذب سطحی مالاشیت گرین در pH بهینه ۸ برابر با ۹۱/۹۷ میلی‌گرم مالاشیت گرین بر حسب گرم گیاه آبی‌غلف به دست آمد [۴۱].

برای جذب رنگ مالاشیت گرین از پساب‌های صنعتی، از پر مرغ نیز استفاده شده است [۴۲]. مطالعات جذب سطحی در دماهای مختلف ۳۰، ۴۰ و ۵۰ سلسیوس و تحت تأثیر pH اولیه، مقدار جاذب، زمان تماس، غلظت رنگ و غیره انجام گرفت. pH اولیه بهینه محلول رنگی مقدار ۵ به دست آمد و بقیه آزمایش‌ها در این pH انجام شد. بر اساس داده‌های آزمایش، مدل سینتیک در غلظت پایین رنگ توسط مدل انتشار فیلم و در غلظت‌های بالای رنگ، توسط مدل انتشار داخل ذره‌ای به خوبی توصیف می‌شود. حداکثر جذب مالاشیت گرین توسط پر مرغ در این آزمایش‌ها مقدار ۱۰×۹۳/۲ مول بر گرم بر اساس ایزوترم لانگمیر و در دمای ۵۰ درجه سلسیوس به دست آمد [۴۲].

برای جذب زیستی رنگ مالاشیت گرین، آزمایش‌هایی با

¹ *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 463

² *Hydrilla verticillata*

لیتر، طی مدت ۲۰ دقیقه به تعادل رسید. زمان تعادل برای غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر مالاشیت‌گرین در دماهای ۲۵ و ۴۰ درجه سلسیوس ۲۰ دقیقه و دمای ۵۰ درجه سلسیوس، مقدار ۴۰ دقیقه به دست آمد. مدل سینتیک شبه‌درجه دوم به طور کامل توانست داده‌های آزمایش را توصیف کند. بیشترین مقدار جذب مالاشیت‌گرین در دمای ۴۰ و ۵۰ درجه سلسیوس در pH طبیعی رنگ و غلظت رنگی ۱۰۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم مالاشیت‌گرین در لیتر محلول، ۲۰۰ میلی‌گرم بر گرم به دست آمد [۴۵].

۴- نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر پتانسیل دو گونه ریزجلبک سبز سندسموس و کلرلا ارزیابی شد. اعتبار و دقت مدل کوادراتیک با ضریب تعیین بالا (>0.99)، مقدار P-value معنی‌دار مدل به اثبات رسید. حداکثر راندمان جذب زیستی برای جلبک‌های سندسموس و کلرلا ۷۳/۲۳ و ۹۱/۳۲ درصد محاسبه شد. بهترین مدل سینتیک جذب زیستی مالاشیت‌گرین، توسط جلبک‌های سندسموس و کلرلا مدل شبه‌درجه دوم تعیین شد. طبق نتایج به دست آمده، بخش عمده جذب در ۳۰ دقیقه نخست برای سندسموس و ۶۰ دقیقه اول برای کلرلا رخ داد که از نظر کاربردی مهم است. بررسی نورسنجی مادون قرمز سطح زی توده جلبک‌های سبز سندسموس و کلرلا قبل و بعد آزمایش جذب مالاشیت‌گرین به خوبی نشان داد که گروه‌های عاملی مختلفی چون هیدروکسیل، کربوکسیل، آمین و غیره روی سطح جاذب قرار دارد. همچنین وجود ساختار لیگنین در دیواره سلولی نشان داده شد. طبق مقایسه‌های قبل و بعد آزمایش گروه عاملی کربوکسیل و هیدروکسیل بیشترین نقش را در جذب زیستی مالاشیت‌گرین توسط زی توده‌های جلبکی سندسموس و کلرلا نشان داد. همچنین بررسی مقایسه قبل و بعد آزمایش جذب زیستی مالاشیت‌گرین نشان داد که بین سندسموس و کلرلا در راندمان جذب مالاشیت‌گرین تفاوت وجود دارد که می‌تواند به خاطر میزان درگیری بیشتر گروه‌های کربوکسیل واقع در روی کلرلا نسبت به سندسموس باشد.

۵- قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی دانشکده منابع طبیعی و معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه صنعتی اصفهان که موجبات انجام این پژوهش را فراهم نمودند، کمال سپاسگزاری را می‌نمایند.

استفاده از خاک اره/یندیکا^۳ در محلول آبی انجام شده است [۴۳]. مطالعات جذب تحت شرایط آزمایشی مختلف همچون زمان همزدن، غلظت رنگ، مقدار خاک اره، pH محلول و دما برای ارزیابی پتانسیل خاک اره/یندیکا به منظور جذب مالاشیت‌گرین از پساب‌ها بررسی شد. همواره در آزمایش‌های جذب، راندمان جذب مالاشیت‌گرین با افزایش مقدار جاذب و کاهش مقدار غلظت اولیه مالاشیت‌گرین باعث افزایش مقدار جذب زیستی این ماده شیمیایی می‌شود. جذب رنگ مالاشیت‌گرین بر روی خاک اره گیاه یندیکا طی یک شب غلظتی از محلول رنگی به سوی سطح جاذب همواره تبعیت می‌کند. حداکثر جذب تک‌لایه‌ای مالاشیت‌گرین توسط جاذب پس از گذشت ۱۴ دقیقه و pH محلول ۷/۲ و دمای واکنش ۳۰ درجه سلسیوس، ۴/۳۵ میلی‌گرم مالاشیت‌گرین بر گرم خاک اره/یندیکا محاسبه شد. همچنین نتایج نشان داد که این آزمایش به طور طبیعی انجام پذیر است [۴۳].

آزمایش‌هایی برای حذف مالاشیت‌گرین از محلول‌های آبی با استفاده از کربن فعال حاصل از ریشه گیاه آروندادوناکس^۴ (ADRC) انجام شده است [۴۴]. در این آزمایش‌ها پارامترهای مختلفی همچون pH محلول به میزان ۳ تا ۱۰، مقدار کربن ۱۵/۰ تا ۱۰/۰ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول، غلظت مالاشیت‌گرین اولیه ۱۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، بر روی جذب سطحی مالاشیت‌گرین تأثیر گذاشتند. مقدار pH مؤثر بین ۵ تا ۷ به دست آمد و مقدار بهینه دز جاذب ADRC، ۰/۶ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول رنگی به دست آمد. زمان تعادل واکنش جذب سطحی مالاشیت‌گرین، در این بررسی ۱۸۰ دقیقه به دست آمد. در شرایط بهینه آزمایش و دمای ۴۰ درجه سلسیوس، حداکثر ظرفیت جذب زیستی مالاشیت‌گرین به صورت تک‌لایه‌ای ۸/۶۹ میلی‌گرم بر گرم به دست آمد. نتایج به دست آمده نشان داد که واکنش جذب مالاشیت‌گرین بر روی سطح جاذب از مدل سینتیک شبه‌درجه دوم پیروی می‌کند [۴۴].

همچنین از کربن فعال تهیه شده از لیگنیت و فعال‌سازی شده با باز پتاس نیز برای حذف رنگ بازی مالاشیت‌گرین استفاده شده است [۴۵]. تأثیر پارامترهای مختلفی همچون غلظت اولیه ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و حرارت ۲۵، ۴۰ و ۵۰ درجه سلسیوس ارزیابی شدند. فرایند جذب بسیار سریع بود و در تمام دماهای آزمایش شده برای غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در

³ *Azadirachta indica*
⁴ *Arundo donax*

۶- مراجع

- Gupta, V.K., and Suhas, S. (2009). "Application of low-cost adsorbents for dye removal a review." *J. of Environment Management*, 90, 2313-2342.

2. Culp, S.J., and Beland, F.A. (1996). "Malachite green: A toxicological review." *J. of American College Toxicology*, 15, 219-238.
3. Cheng, R., Jiang, Z., Ou, S., Li, Y., and Xiang, B. (2009). "Investigation of acid black 1 adsorption onto amino-polysaccharides." *J. of Polymer Bulletin*, 62, 69-77.
4. Srivastava, S., Sinha, R., and Roy, D. (2004). "Toxicological effects of malachite green." *J. of Aquatic Toxicology*, 66, 319-329.
5. Parshetti, G., Kalme, S., Sartale, G., and Govindwar, S. (2006). "Biodegradation of malachite green by *Kocuria rosea* MTCC 1532." *J. of Acta Chimica Slovenica*, 53, 492-498.
6. Kaushik, P., and Malik, A. (2009). "Fungal dye decolorization: recent advances and further potential." *J. of Environment International*, 35, 127-141.
7. Forgacs, E., Cserhati, T., and Oros, G. (2004). "Removal of synthetic dyes from wastewaters: A review." *J. of Environment International*, 30, 953-971.
8. Mondal, S. (2008). "Methods of dye removal from dye house effluent an overview." *J. of Environmental Engineering Sciences*, 25, 383-396.
9. Ertugrul, S., Sam, N.O., and Donmez, G. (2009). "Treatment of dye (Remazol Blue) and heavy metals using yeast cells with the purpose of managing polluted textile wastewaters." *J. of Ecological Engineering*, 35, 128-134.
10. Volesky, B., and Holan, Z.R. (1995). "Biosorption of Heavy Metals." *J. of Biotechnology Progress*, 11, 235-250.
11. Aleboye, A., Kasiri, M.B., Olya, M.E., and Aleboye, H. (2008). "Prediction of azo dyedecolorization by UV/H₂O₂ using artificial neural networks." *J. of Dyes and Pigments*, 77, 288-294.
12. Khataee, A.R. (2009). "Photocatalytic removal of C.I. basic red 46 on immobilized TiO₂ nanoparticles: Artificial neural network modeling." *J. of Environmental Technology*, 30, 1155-1168.
13. Banat, I.M., Nigam, P., and Singh, D. (1996). "Microbial decolorization of textile-dyecontaining effluents: a review." *J. of Bioresource Technology*, 58, 217-227.
14. Daneshvar, N., Ayazloo, M., Khataee, A.R., and Pourhassan, M. (2007). "Biological decolorization of dye solution containing Malachite Green by microalgae *Cosmarium sp.*" *J. of Bioresource Technology*, 98, 1176-1182.
15. Tahir, S.S., and Rauf, N. (2006). "Removal of a cationic dye from aqueous solutions by adsorption onto bentonite clay." *J. of Chemosphere*, 63, 1842-1848.
16. Tunalı, S., Akar, T., Özcan, A.S., Kiran, I., and Özcan, A. (2006). "Equilibrium and kinetics of biosorption of lead(II) from aqueous solutions by *Cephalosporium aphidicola*." *J. of Separation and Purification Technology*, 47, 102-109.
17. Bellinger, E.G., and Sigeo, D.C. (2010). *Freshwater algae identification and use as bioindicators*, John Wiley and Sons, Ltd., Pub., USA.
18. Kumar, K.V., Ramamurthi, V., and Sivanesan, S. (2006). "Biosorption of malachite a greencationic dye onto *Pithophora sp.*, a fresh water algae." *J. of Dyes and Pigments*, 69, 74-79.
19. Jabasingh, S.A., and Pavithra, G. (2010). "Response surface approach for the biosorption of Cr⁶⁺ ions by *Mucor racemosus*." *J. of Clean*, 38, 492-499.
20. Moeini Feyzabadi, E. (2012). "Heavy metal removal from aqueous solution using algae biomass of *Scenedesmus quadricauda*." MSc Thesis, Isfahan University of Technology. (In Persian)
21. Shokri Khoubestani, R. (2013). "Chromium removal from aqueous solution using biomass of green microalgae, *Scenedesmus quadricauda*." MSc Thesis, Isfahan University of Technology. (In Persian)
22. Bekci, Z., Sekia, Y., and Cavas, L. (2009). "Removal of malachite green by using an invasive marine algae *Caulerpa racemosa* var. *clyndracea*." *J. of Hazardous Materials*, 161, 1454-1460.
23. Tsai, W.T., and Chen, H.R. (2010). "Removal of malachite green from aqueous solution using low-cost chlorella-based biomass." *J. of Hazardous Materials*, 175, 844-849.
24. Heidari, S. (2009). "Cultivation and growth of *Scenedesmus quadricauda* at different concentrations of nitrogen for application in aquaculture and wastewater treatment." MSc Thesis, Isfahan University of Technology. (In Persian)

25. Singh, R., Chadetrik, R., Kumar, R., Bishnoi, K., Bhatia, D., Kumar, A., Bishnoi, and Singh, N. (2010). "Biosorption optimization of lead (II), cadmium(II) and copper(II) using response surface methodology and applicability in isotherms and thermodynamics modeling." *J. of Hazardous Materials*, 174, 623-634.
26. Lagergren, S. (1898). "Zur theorie der sogenannten adsorption geloster stoffe, Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens." *Handlingar* 24, 1-39.
27. Ho, Y.S., and McKay, G. (1999). "Pseudo-second order model for sorption processes." *J. of Process Biochemistry*, 34, 451-465.
28. Weber, W.J., and Morris, J.C. (1963). "Kinetics of adsorption on carbon from solution." *J. of Sanitary Engineering.* " *J. of Div.*, 89, 31-59.
29. Zarei, M., Salari, D., Niaei, A., and Khataee, A.R. (2010). "Application of response surface methodology for optimization of peroxi-coagulation of textile dye solution using carbon nanotube-PTFE cathode." *J. of Hazardous Materials*, 173, 544-551.
30. Bezerra, M.A. (2008). "Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry." *J. of Talanta*, 76, 965 - 977.
31. Santos, S.C.R., and Boaventura, R.A.R. (2008). "Adsorption modelling of textile dyes by sepiolite." *J. of Applied Clay Science*, 42, 137-145.
32. Donmez, G.C., Aksu, Z., Ozturk, A., and Kutsal, T. (1999). "A comparative study on heavy metal biosorption characteristics of some algae." *J. of Process Biochemistry*, 34, 885-892.
33. Goldacre, R.J., and Philips, J.N. (1949). "The ionization of basic triphenylmethane dyes." *J. of the Chemical Society*, 11, 1724-1732.
34. Crini, G., Peindy, H.N., Gimbert, F., and Robert, C. (2007). "Removal of C.I. Basic Green 4 (malachite green) from aqueous solutions by adsorption using cyclodextrin -based adsorbent: kinetic and equilibrium studies." *J. of Separation and Purification Technology*, 53, 97-110.
35. Mehta, S.K., and Gaur, J.P. (2005). "Use of algae for removing heavy metal ions from wastewater: Progress and prospects." *J. of Critical Reviews in Biotechnology*, 25, 113-152.
36. Selatnia, A., Boukazoula, A., Kechid, N., Bakhti, M.Z., and Chergui, A. (2004). "Biosorption of Fe³⁺ from aqueous solution by a bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass." *J. of Process Biochemistry*, 39, 1643-1651.
37. Nadeem, R., Ansari, T.M., and Khalid, A.M. (2008). "Fourier transform Infrared spectroscopic characterization and optimization of Pb(II) biosorption by fish (*Labeo rohita*) scales." *J. of Hazardous Materials*, 156, 64-73.
38. Akar, T., and Tunali, S. (2005). "Biosorption performance of *Botrytis cinerea* fungal byproducts for removal of Cd(II) and Cu(II) ions from aqueous solutions." *J. of Minerals Engineering*, 18, 1099-1109.
39. Wang, X.S. (2010). "Invasive freshwater macrophyte alligator weed: Novel adsorbent for removal of malachite green from aqueous solution." *J. of Water, Air and Soil Pollution*, 206, 215-223.
40. Jadhav, J.P., and Govindwar, S.P. (2006). "Biotransformation of malachite green by *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 463." *J. of Yeast*, 23, 315-323.
41. Rajeshkannan, R., Rajasimman, M., and Rajamohan, N. (2010). "Removal of malachite green from aqueous solution using *Hydrilla verticillata*: Optimization, equilibrium and kinetic studies." *Int. J. of Civil Environment Engineering*, 2, 222-229.
42. Mittal, A. (2006). "Adsorption kinetics of removal of a toxic dye, malachite green, from wastewater by using hen feathers." *J. of Hazardous Materials*, 133, 196-202.
43. Khattri, S.D., and Singh, M.K. (2009). "Removal of malachite green from dye wastewater using neem sawdust by adsorption." *J. of Hazardous Materials*, 167, 1089-1094.
44. Zhang, J., Li, Y., Zhang, C., and Jing, Y. (2008). "Adsorption of malachite green from aqueous solution onto carbon prepared from *Arundo donax* root." *J. of Hazardous Materials*, 150, 774-782.
45. Onal, Y., and Sancr-Ozdernir, C. (2007). "Investigation kinetics mechanisms of adsorption malachite green onto activated carbon." *J. of Hazardous Materials*, 146, 194-203.