اثر تثبیت ریزجلبک *کلامیدوموناس* برای حذف ارتوفسفات از پساب شهری

نرگس زمانی[۱] مسعود نوشادی[۲] سیف‌اله امین[۳]
علی نیازی[۴] یونس قاسمی[۵]

(دریافت ۸۹/۲/۱۹ پذیرش ۸۹/۱۲/۲۶)

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی اثر کاربرد و نحوه عملکرد ریزجلبک *کلامیدوموناس* در حذف ارتوفسفات از پساب شهری بود. در این پژوهش سه تیمار به‌صورت ریزجلبک تثبیت شده در آلژینات، ریزجلبک آزاد و بدون ریزجلبک (تیمار شاهد) با مقادیر مختلف هوادهی (صفر، ۱ و ۲/۵ لیتر در دقیقه) با سه تکرار درنظر گرفته شد و به ۱/۵ لیتر از پساب خروجی مرحله دوم تصفیه‌خانه فاضلاب شیراز اضافه شد. در یک دوره ۱٤ روزه، عملکرد ریزجلبک در حذف ارتوفسفات از پساب شهری مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصل، بالاترین نرخ کاهش ارتوفسفات (۱۰/۳۳ درصد در روز) مربوط به تیمار ریزجلبک تثبیت شده با هوادهی ۲/۵ لیتر بر دقیقه بود که این نرخ با کاهش میزان هوادهی کاهش یافت. البته تیمار با ریزجلبک آزاد با هوادهی ۱ لیتر بر دقیقه نیز نتایج خوبی داشت. تثبیت و افزایش میزان هوادهی بر تعامل بین ریزجلبک و باکتری، تأثیر گذاشته و باعث حذف مقادیر بیشتر ارتوفسفات شد.

واژه‌های کلیدی: تصفیه فاضلاب شهری، ارتوفسفات، ریزجلبک، *کلامیدوموناس*، هوادهی، مهره‌های آلژینات

Investigation of Immobilization of Microalgae *Chlamydomonas* for Orthophosphate Removal from Municipal Wastewater

Narges Zamani[1] *Masoud Noshadi*[2] *Seifollah Amin*[3]
Ali Niyazi[4] *Younes Ghasemi*[5]

(Received Apr. 21, 2010 Accepted Mar. 16, 2011)

Abstract

The aim of this research is to study the performance of microalgae Chlamydomonas in orthophosphate removal from municipal wastewater. In this research three treatments in three replications were applied. The treatments were free and immobilized cells of Chlamydomonas in alginate and blank (without microalgae). Three treatments were added into bioreactors with different rate of aeration (0, 1 and 2.5 $Lmin^{-1}$), containing 1.5 litre of secondary effluent of Shiraz wastewater treatment plant. Orthophosphate removal from wastewater was examined for 14 days. The highest orthophosphate removal rate (10.33 percent per day) belonged to the immobilized microalgae treatment with 2.5 $Lmin^{-1}$ aeration rate. Furthermore, for the immobilized microalgae treatments, removal efficiency decreased as a result of decrease in aeration rate. The results of free Chlamydomonas with 1 $Lmin^{-1}$ aeration rate in orthophosohate removal were remarkable. Immobilization of microalgae with increasing aeration rate would improve algal- bacterial process and also would increase efficiency of orthophosphate removal.

Keywords: Municipal Wastewater Treatment, Orthophosphate, Microalgae, *Chlamydomonas*, Aeration, Alginate Beads.

۱- کارشناس ارشد مهندسی آب، دانشگاه شیراز
۲- استادیار بخش مهندسی آب، دانشگاه شیراز(نویسنده مسئول) (۰۷۱۱)۲۲۸۶۱۳۰
noshadi@shirazu.ac.ir
۳- استاد بخش مهندسی آب، دانشگاه شیراز
٤- استادیار پژوهشکدهٔ بیوتکنولوژی، دانشگاه شیراز
۵- دانشیار گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکدهٔ داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

1. M.Sc. of Water Eng., Shiraz University, Shiraz
2. Assist. Prof. of Water Eng., Shiraz University, Shiraz (Corresponding Author) (+98 711) 2286130. noshadi@shirazu.ac.ir
3. Prof. of Water Eng., Shiraz University, Shiraz
4.Assis. Prof., Biotechnology Research Center, Shiraz University, Shiraz
5. Assoc. Prof. of Pharmaceutical Biotechnology, School of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz

۱- مقدمه

در همه جوامع مقادیر زیادی فاضلاب تولید می‌شود که برای سلامتی انسان و محیط‌زیست خطرناک است و باید قبل از تخلیه به رودخانه‌ها، دریاچه‌ها و زمین تصفیه گردد. اگر تصفیه ثانویه نیز بر روی فاضلاب شهری، صنعتی و کشاورزی صورت گیرد، باز هم این فاضلابها مقادیر متنابهی نیتروژن و فسفر دارند [۱]. این مواد مغذی می‌توانند به‌طور مستقیم باعث ایجاد پدیده "مغذی شدن[1]" در رودخانه‌ها، دریاچه‌ها و دریاها گردند [۲و۳]. بنابراین قبل از تخلیه این فاضلابها باید مواد مغذی آنها حذف شود.

تحقیقات دو سه دهه اخیر پژوهشگران بر استفاده از ریزجلبکها در تصفیه پساب نشان می‌دهد که این موجودات تک‌سلولی می‌توانند انتخابی مناسب در رسیدن به این هدف باشند. کاربرد ریزجلبک در تصفیه پساب براساس اصول اکوسیستم طبیعی بنا نهاده شده، در نتیجه از نظر محیط‌زیستی مضر نیستند. همچنین قابلیت بازیافت مناسب مواد مغذی (نیتروژن و فسفر) از پساب را داشته و در صورت بازمصرف توده زیستی تولیدی، هیچ‌گونه آلودگی ثانویه‌ای ایجاد نمی‌گردد [۴]. تقاضای بیوشیمیایی اکسیژن[2] پساب شهری را می‌توان با استفاده از سیستم فتوسنتزیک ریزجلبک کاهش داد [۵-۷]. ریزجلبکها برای ساخت پروتئین، اسیدهای نوکلئیک و فسفولیپیدها مواد مغذی را از پساب جذب نموده و قادر به جذب فلزات سنگین و آلاینده‌های سمّی از پساب هستند [۸-۱۳]. ریزجلبکها فعالیت عوامل بیماری‌زا را بر اثر افزایش pH و غلظت اکسیژن محلول در پساب خروجی کاهش می‌دهند [۱۴-۱۶]. مقادیر زیاد پروتئین و رشد سریع ریزجلبک و نیز عدم احتمال ایجاد بیماری توسط این پروتئین تک‌یاخته نشان می‌دهد که می‌توان از ریزجلبکها به‌عنوان منابع غذایی مناسب برای انسان و دام استفاده نمود [۱۷و ۱۸]. همچنین توده زیستی در تولید کود، بیوگاز به‌کار برده می‌شود [۱۹-۲۱].

از آنجا که استفاده از ریزجلبک به‌صورت آزاد، مشکل برداشت و جداسازی توده زیستی را به‌همراه خواهد داشت، روشهای مختلفی برای تثبیت[3] (قراردهی ریزجلبکها در یک ماده نگهدارنده و محافظ) محافظ) ارائه شده و مورد بررسی قرار گرفته است. تکنولوژی تثبیت نه تنها از هدر رفتن توده زیستی از بیوراکتور جلوگیری می‌کند، بلکه عملکرد، بهتر شده و جداسازی آن از محیط راحت‌تر می‌گردد [۲۲-۲۴]. تم[4] و وانگ[5] در سال ۲۰۰۰ حذف نیتروژن- آمونیومی و ارتوفسفات از پساب را در سیستم حاوی سلول‌های آزاد و تثبیت شده مقایسه کردند. راندمان حذف آمونیوم و ارتوفسفات در سیستم تثبیت شده، ۷۸ و ۹۴ درصد و در سیستم با سلول آزاد ۴۰ و ۵۹ درصد حاصل شد [۲۳].

فییرو و همکاران[6] در سال ۲۰۰۷ حذف نیتروژن- نیتراتی و ارتوفسفات توسط ریزجلبک *سندسموس*[7] تثبیت شده و آزاد را بررسی کردند. سلول‌های تثبیت شده ۷۰ و ۹۴ درصد از نیترات و ارتوفسفات را طی ۱۲ ساعت از محیط حذف نموده درحالی که سلولهای آزاد ۲۰ درصد نیترات و ۳۰ درصد ارتوفسفات را در مدت ۳۶ ساعت حذف کرده است. مستأجران و همکاران در سال ۱۳۸۴ اثر جلبکهای سبز و سبز- آبی در کاهش بار آلودگی پسابهای صنعتی با استفاده از برکه‌های تثبیت را مورد بررسی قرار دادند [۲۵]. برای انجام این تحقیق از سه جلبک *آنابنا*، *اسیلاتوریا* و *اسپیروژیر* و پساب کارخانه‌های روغن نباتی، قند و کشتارگاه اصفهان استفاده گردید. بررسی‌های انجام شده در این تحقیق نشان داد که گونه‌های جلبکی، شدت کاهش BOD_5 و COD را زیاد کرده ولی مقدار کاهش به ازای زمان‌ماند و همچنین در پساب‌های مختلف، متفاوت است.

بینا در سال ۱۳۸۲ راندمان یک سیستم تصفیه فاضلاب هیدروپونیک که ترکیبی از لجن فعال متعارف و رویش گیاهان آبزی (جلبک) در سطح مخزن برای حذف مواد آلی، ازت و فسفر از پسابهای شهری بود را مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد که ۹۰ درصد COD در این سیستم در تصفیه بیولوژیکی و مخازن هیدروپونیک کاهش می‌یابد. حذف ازت و فسفر در فرایند نیتریفیکاسیون و دینیتریفیکاسیون به‌ترتیب ۷۲ و ۴۷درصد تعیین گردید [۲۶].

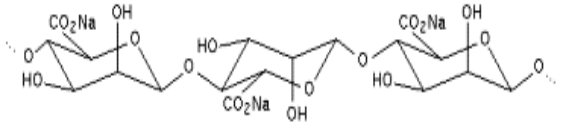
در تثبیت میکروارگانیسم‌ها بیشتر از آگار[8]، کارآژنیان[9] و یا آلژینات[10] استفاده می‌شود. آلژینات به‌دلیل دارا بودن خصوصیات ماتریکس ایده‌آل (غیر سمّی بودن، پایداری در محیط کشت، قابلیت نفوذ نور، نگهداری توده زیستی، مقاومت در برابر انحلال و یا تغییر شکل با رشد ریزجلبک‌ها) به‌صورت گسترده‌ای برای به دام‌اندازی ریزجلبکها به‌کار می‌رود [۲۷-۲۹]. آلژینات، پلی‌ساکاریدی است که از جلبکهای قهوه‌ای استخراج شده و در ساختار آن دو ترکیب اسید گلورونیک[11] و اسید منیورنیک[12] وجود

[1] Eutrophication
[2] Biochemical Oxygen Demand (BOD)
[3] Immobilization
[4] Tam
[5] Wong

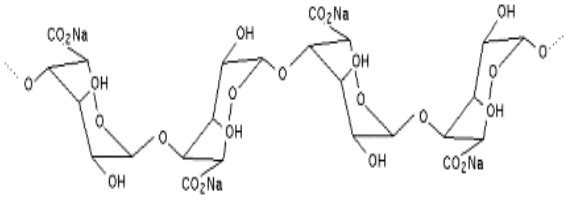
[6] Fierro et al.
[7] *Scenedesmus*
[8] Agar
[9] Carageenan
[10] Alginate
[11] α-L- guluronic acid
[12] β - D- mannuronic acid

دارد که به‌صورت بلوک‌های خطی چند پلیمری در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند. در شکل ۱ ساختار این دو ترکیب آورده شده است [۳۰].

در بررسی‌های اولیه، ۱۰ گونه مختلف ریزجلبک در آلژینات تثبیت شده و از نظر حذف نیتروژن- نیتراتی و ارتوفسفات از پساب شهری مورد بررسی قرار گرفتند. گونه *کلامیدوموناس*[1] بالاترین راندمان حذف را در مقایسه با سایر گونه‌ها داشت [۳۱]. در این پژوهش، عملکرد ریزجلبک *کلامیدوموناس* به‌صورت سلول آزاد و تثبیت شده، در بیوراکتور با میزان هوادهی مختلف در حذف ارتوفسفات از پساب شهری مطالعه شد.



(الف)



(ب)

شکل ۱- ساختار پلیمری ترکیبات آلژینات (الف) ساختار اسید پلی‌منیورنیک سدیم، (ب) ساختار اسید پلی گلورونیک سدیم [۳۰]

۲- مواد و روشها

۲-۱- تهیه و کشت ریزجلبک

ریزجلبک *کلامیدوموناس* که قبلاً در گروه بیوتکنولوژی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شیراز به‌منظور کاربرد در تحقیقات بیوتکنولوژی دارویی به‌روشهای مورفولوژیک شناسایی شده و با استفاده از PCR[2] و تکثیر و توالی‌یابی مارکر مولکولی 18S rRNA تأیید نهایی گردیده بود، در محیط کشت اختصاصی BG-۱۱ واکشت[3] داده شد. منظور از واکشت، کشت دادن مجدد ریزجلبک با افزودن مقداری از ریزجلبک رشد یافته در محیط کشت جدید است. واکشت ریزجلبک به‌مدت ۱۴ روز، در اتاق کشت، در دمای ۲۱ درجه سلسیوس و شدت نور ثابت Lux ۱۰۰۰ صورت گرفت.

[1] Chlamydomonas
[2] Polymeras Chain Reaction (PCR)
[3] Subculture

۲-۲- تثبیت ریزجلبک

تثبیت ریزجلبک در آلژینات سدیم[4] صورت گرفت [۸]. محلول‌های آلژینات سدیم ۴ درصد، کلریدکلسیم ۲ درصد و کلریدسدیم (سالین) ۰/۸۵ درصد تهیه و به‌طور جداگانه در اتوکلاو به‌مدت ۱۵ دقیقه، در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱۵ psi استریل شدند. برای شمارش میزان سلول از اسپکتروفتومتر[5] استفاده استفاده شد [۳۲]. میزان سلول در محیط کشت BG- ۱۱، ۱ میلی‌گرم در لیتر بود که به ازای هر تیمار حاوی ریزجلبک (سلول آزاد و یا تثبیت شده) ۵۰ سی سی از محیط در فالکون ریخته شد و در دستگاه سانتریفیوژ در دور ۴۵۰۰ rpm به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت تا سلول‌ها از محیط کشت جداسازی شدند و سپس محیط کشت تخلیه گردید. ریزجلبکها برای تیمارهای سلول آزاد و تثبیت شده، دوبار با سالین شستشو داده شدند. سپس به فالکون سلول‌های مربوط به تیمار ریزجلبک آزاد ۱۰ سی سی آب مقطر اضافه گردید تا از خشک شدن آنها تا زمان شروع آزمایش جلوگیری شود. برای تثبیت ریزجلبک، پس از دوبار شستشوی سلول‌ها با سالین، آنها به محلول آلژینات سدیم ۴ درصد اضافه شدند و سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه بر روی همزن مغناطیسی[6] قرار گرفتند. در این مرحله محلول محلول آلژینات-ریزجلبک با سرنگ به‌صورت قطره قطره به محلول کلریدکلسیم ۲ درصد اضافه شد تا مهره‌های تثبیت شکل گرفتند. پس از نیم ساعت، مهره‌ها با محلول نمک شسته شده و تا شروع آزمایش در آب مقطر قرار گرفتند. عدم وجود ماده مغذی در آب مقطر مانع از رشد ریزجلبک شده در نتیجه میزان سلول ثابت ماند.

۲-۳- تهیه پساب شهری

از پساب خروجی مرحله دوم تصفیه‌خانه فاضلاب شیراز نمونه‌برداری انجام شد. در این تصفیه‌خانه تصفیه مقدماتی به‌وسیله آشغالگیر و حوضچه دانه‌گیر، تصفیه اولیه به‌وسیله ته‌نشین اولیه جامدات آلی معلق و تصفیه ثانویه به‌وسیله لجن فعال صورت می‌گیرد. نمونه‌ها بعد از عبور از کاغذ صافی، در دستگاه اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس قرار داده شدند تا استریل گردند. بر اساس اندازه‌گیری‌های انجام شده در تحقیقات گذشته متوسط غلظت اولیه و تقریبی ارتوفسفات در پساب شهری ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر بود [۳۱]. به‌منظور بررسی عملکرد و پتانسیل ریزجلبک در حذف مقادیر بیشتر ارتوفسفات، غلظت اولیه

[4] Alginic acid sodium salt, Viscosity approximately 3500 cps.
[5] Spectrophotometer
[6] Stirrer

ارتوفسفات در پساب با افزودن محلول فسفات هیدروژن پتاسیم به حدود ۱۰ میلی‌گرم در لیتر افزایش یافت.

۲-۴- طرح آزمایش‌ها

برای تصفیه پساب از سیستم HRAP[1] استفاده گردید. این سیستم در حالت بسته[2] و از ظروف پلاستیکی به ابعاد ۱۳×۱۹×۲۶ سانتی‌متر ساخته شد. نوردهی با لامپ سدیمی آفتابی با شدت ۳۰۰۰ Lux در سطح ظروف و به‌مدت ۱۶ ساعت انجام شد. دمای محیط با استفاده از سیستم خنک کننده (اسپلیت) در ۲۰ درجه سلسیوس ثابت نگاه داشته شد. به‌منظور بررسی اثر هوادهی بر عملکرد ریزجلبک، هوادهی به میزان ۲/۵ و ۱ لیتر بر دقیقه برای تیمارهای با هوادهی درنظر گرفته شد. همچنین برای بررسی اثر تثبیت و تفاوت عملکرد ریزجلبک در حالت سلول آزاد و تثبیت شده، تیمارهای مورد آزمایش به‌صورت پساب حاوی ریزجلبک آزاد، ریزجلبک تثبیت شده و بدون ریزجلبک در نظر گرفته شدند. بنابراین تیمارهای مورد بررسی عبارت بودند از:

Im ۲/۵ (پساب حاوی ریزجلبک تثبیت شده با هوادهی ۲/۵ لیتر بر دقیقه)، Fr ۲/۵ (پساب حاوی ریزجلبک آزاد با هوادهی ۲/۵ لیتر بر دقیقه)، Bl ۲/۵ (پساب بدون ریزجلبک با هوادهی ۲/۵ لیتر بر دقیقه) ، Im ۱ (پساب حاوی ریزجلبک تثبیت شده با هوادهی ۱ لیتر بر دقیقه) ، Fr ۱ (پساب حاوی ریزجلبک آزاد با هوادهی ۱ لیتر بر دقیقه)، Bl ۱ (پساب بدون ریزجلبک با هوادهی ۱ لیتر بر دقیقه)، Im (پساب حاوی ریزجلبک تثبیت شده بدون هوادهی)، Fr (پساب حاوی ریزجلبک آزاد بدون هوادهی)، Bl (پساب بدون ریزجلبک بدون هوادهی). برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد.

بر اساس نتایج مرحله تعیین گونه ریزجلبک، حذف مواد مغذی در دامنه pH بین ۹/۴ تا ۹/۸ صورت گرفت. اما متوسط pH اولیه پساب اتوکلاو شده در حدود ۸/۵ اندازه‌گیری شد. بنابراین در هر دو حالت بعد از نمونه برداری از پساب، با افزودن چند قطره بافر هیدروکسید سدیم یک نرمال، pH نمونه در ۹/۵ تنظیم شد.

اندازه‌گیری میزان ارتوفسفات به‌روش فسفات واکنش‌گر (ارتو)- روش مورفی-ریلی[3] استاندارد اندازه‌گیری آب و پساب[4] به‌وسیله اسپکتروفتومتر مدل جنوی[5] در طول موج ۸۸۰ نانومتر انجام شد [۳۳].

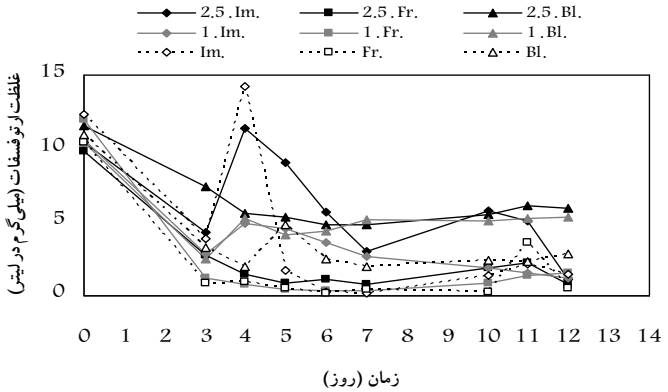
۳- نتایج و بحث

مقدار ارتوفسفات در دوره ۱۴ روز اندازه‌گیری و روند تغییرات آن در شکل ۲ نشان داده شده است. علت اختلاف در غلظت ارتوفسفات در روز اول در نمونه‌های پساب به‌دلیل تفاوت در غلظت اولیه آن هنگام نمونه‌برداری بود. متوسط مقدار اولیه ارتوفسفات که قبل از افزودن بافر هیدروکسید سدیم، نمونه‌برداری آن انجام شده بود، ۱۰/۹ میلی‌گرم در لیتر بود. بعد از نمونه‌برداری بافر هیدروکسیدسدیم ۱ نرمال اضافه شد تا pH در ۹/۵ تنظیم گردد. افزایش pH طبق رابطه ۱ باعث تشکیل رسوب در محیط شد به‌طوری که اندازه‌گیری این پارامتر در روز چهارم که در واقع دومین نوبت نمونه‌برداری و اندازه‌گیری ارتوفسفات بود، کاهش شدید آن را در کلیه تیمارها به خصوص تیمارهای حاوی ریزجلبک نشان داد [۳۴].

(۱)

$$5Ca(OH)_2 + 3(H_nPO_4)^{(3-n)-} \rightarrow Ca_5(OH)(PO_4)_3 \downarrow + nH_2O + (9-n)OH^-$$

[1] High Rate Algal Pond (HRAP)
[2] Batch
[3] Murphy-Riley
[4] Standard methods for examination of water and wastewater
[5] Jenway



شکل ۲- روند تغییرات ارتوفسفات در پساب طی ۱۴ روز در تیمارهای مختلف

در تیمارهای ریزجلبک تثبیت شده، از روز چهارم تا روز پنجم افزایش در میزان ارتوفسفات مشاهده می‌شود. علت افزایش ارتوفسفات در این تیمارها، ساختار آلژینات است. در ساختار هر دو ترکیب اسیدگلورونیک و اسیدمنیورنیک موجود در آلژینات، یون سدیم (Na^+) وجود دارد. کاتیون‌های یک ظرفیتی به‌سادگی توسط کاتیون‌های ۲ یا چند ظرفیتی جایگزین می‌شود. درجه تمایل کاتیون‌ها برای جابه‌جایی به‌صورت زیر است [۳۵]

$$Al^{3+} > Ca^{2+} > Mg^{2+} > K^+ > H^+ > Na^+ > Li^+$$

لذا با توجه به تمایل زیاد کلسیم برای تبادل، این تبادل کاتیونی بین کلسیم موجود در محیط حاوی رسوبات فسفات کلسیم و یون سدیم موجود در ساختار آلژینات صورت گرفته و با انحلال رسوبات فسفات کلسیم، میزان ارتوفسفات محلول افزایش یافته، سپس در اثر جذب آن توسط ریزجلبک و نیز باکتری، از میزان ارتوفسفات کاسته می‌شود.

در جدول ۱ مقدار اولیه ارتوفسفات، بیشینه آن در کل دوره و روز وقوع آن، مقدار PO_4^{3-} -P در روز آخر، راندمان حذف نسبت به بیشینه مقدار آن در کل دوره، راندمان حذف کل و مدت زمان حذف ارائه شده است. در ستون آخر معدل انحراف معیار بین تکرارهای هر تیمار نشان داده شده است.

در تیمارهای ریزجلبک تثبیت شده با میزان هوادهی ۲/۵ و ۱ لیتر بر دقیقه و بدون هوادهی، راندمان کلی حذف[1] ارتوفسفات از روز اول تا چهاردهم به ترتیب ۹۲/۳۵، ۹۰/۹۲ و ۹۰/۹۸ درصد و در تیمارهای ریزجلبک آزاد با مقادیر هوادهی بالا، راندمان کلی حذف به ترتیب ۹۶/۳۳، ۹۷/۱۶ و ۹۵/۱۲ درصد بود. نتایج تحقیقات تم و وانگ در سال ۲۰۰۰ و فییرو و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که درصد حذف ارتوفسفات در سیستم تثبیت شده به نتایج این تحقیق نزدیک است ولی در سیستم آزاد، نتایج متفاوت است. در تیمارهای بدون ریزجلبک نیز راندمان کلی حذف به‌ترتیب ۳۸/۳۹، ۴۸/۴۲ و ۷۲/۰۴ درصد بود. بنابراین کاربرد یا وجود ریزجلبک در حذف ارتوفسفات از پساب تأثیرگذار بود و اثر هوادهی در تیمارهای حاوی ریزجلبک اعم از تثبیت شده و آزاد، به مراتب از تیمار بدون ریزجلبک بیشتر بود.

حذف ارتوفسفات در محیط توسط ریزجلبک آزاد از همان روز اول صورت گرفت و طی ۱۴ روز بین ۹۵/۱ تا ۹۷/۲ درصد آن حذف شد. حال آن که تیمار ریزجلبک تثبیت شده به‌علت ساختار آلژینات و تبادل کاتیونی صورت گرفته بین رسوبات موجود در پساب با این ماده، غلظت ارتوفسفات تا روز پنجم افزایش و سپس

[1] راندمان حذف ارتوفسفات از روز اول تا روز چهاردهم

جدول ۱- خلاصه نتایج تغییرات ارتوفسفات در تیمارها

تیمار	غلظت PO_4^{3-} -P در روز اول (mg/L)	حداکثر غلظت PO_4^{3-} -P در کل دوره (mg/L)	روز وقوع حداکثر PO_4^{3-} -P (روز)	مقدار PO_4^{3-} -P در روز آخر (mg/L)	راندمان حذف PO_4^{3-} -P از حداکثر غلظت تا روز آخر (درصد)	راندمان کلی حذف (درصد)	نرخ کاهش PO_4^{3-} -P (درصد در روز)	معدل انحراف معیار (SD)
۲/۵ Im.	۱۰/۴۶	۱۱/۳۴	۵	۰/۸۰	۹۲/۹۵	۹۲/۳۵	۱۰/۳۳	۲/۴۲
۲/۵ Fr.	۹/۸۱	۹/۸۱	۱	۰/۳۶	۹۶/۳۳	۹۶/۳۳	۷/۴۱	۰/۳۴
۲/۵ Bl.	۱۱/۵۴	۱۱/۵۴	۱	۷/۱۱	۳۸/۳۹	۳۸/۳۹	۲/۹۵	۲/۲۹
۱ Im.	۱۰/۵۷	۱۲/۹۲	۵	۰/۹۶	۹۲/۵۷	۹۰/۹۲	۱۰/۲۹	۰/۵۰
۱ Fr.	۱۱/۹۸	۱۱/۹۸	۱	۰/۳۴	۹۷/۱۶	۹۷/۱۶	۷/۴۷	۰/۳۳
۱ Bl.	۱۰/۴۵	۱۰/۴۵	۱	۵/۳۹	۴۸/۴۲	۴۸/۴۲	۳/۷۲	۱/۰۷
Im.	۱۲/۳۰	۱۴/۲۰	۵	۱/۱۱	۹۲/۱۸	۹۰/۹۸	۱۰/۲۴	۰/۸۷
Fr.	۱۰/۴۶	۱۰/۴۶	۱	۰/۵۱	۹۵/۱۲	۹۵/۱۲	۷/۳۲	۱/۰۹
Bl.	۱۰/۹۸	۱۰/۹۸	۱	۳/۰۷	۷۲/۰۴	۷۲/۰۴	۵/۵۴	۳/۲۰

تا روز چهاردهم به‌علت بیوجذب ریزجلبک کاهش یافت. بنابراین راندمان حذف ارتوفسفات از حداکثر غلظت آن در طول دوره تا آخرین روز آزمایش در تیمارهای Im ۲/۵، Im ۱ و Im، به‌ترتیب ۹۲/۹۵، ۹۲/۵۷ و ۹۲/۱۸ درصد بود که طی ۹ روز توسط ریزجلبک صورت گرفت. مقایسه نرخ کاهش که حاصل تقسیم راندمان حذف از حداکثر غلظت آن تا روز آخر بر طول مدت زمان کاهش غلظت ارتوفسفات است، نشان داد که نرخ کاهش در تیمارهای حاوی ریزجلبک تثبیت شده نسبت به تیمارهای با ریزجلبک آزاد و بدون ریزجلبک بالاتر است. در تیمارهای ریزجلبک تثبیت شده با هوادهی ۲/۵ و۱ لیتر بر دقیقه و بدون هوادهی، نرخ کاهش به ترتیب ۱۰/۳۳، ۱۰/۲۹ و ۱۰/۲۴ درصد در روز بود که به مراتب از تیمارهای با ریزجلبک آزاد و بدون ریزجلبک با همین مقادیر هوادهی بزرگ‌تر هستند. لذا تثبیت ریزجلبک و ساختار پلیمریک آلژینات عملکرد ریزجلبک را از نظر جذب ارتوفسفات از محیط بهبود می‌بخشد.

نتایج تحقیقات تاکور[1] و کومار[2] در سال ۱۹۹۹ بر ریزجلبک *دانالیلا سالینا*[3] در حذف نیترات، آمونیوم و ارتوفسفات نیز نشان داد که در شرایط تثبیت ریزجلبک، راندمان بهتری نسبت به حالت سلول آزاد حاصل شده است [۳۶]. همچنین لائو و همکاران[4] در سال ۱۹۹۷، از ریزجلبک *کلورالا والگاریس*[5] تثبیت شده در کارآژینات و آلژینات برای تصفیه پساب استفاده کردند. نتایج نشان داد که ریزجلبک تثبیت شده به‌ترتیب ۹۵ و ۹۹ درصد آمونیوم و ارتوفسفات را طی ۳ روز حذف کرد درحالی که ریزجلبک آزاد در حدود ۵۰ درصد این دو ترکیب را در مدت زمان مشابه حذف کرده است.

همچنین مقایسه تیمارهای Im ۲/۵، Im ۱ و Im و نیز تیمارهای Fr ۲/۵، Fr ۱ و Fr با یکدیگر برای بررسی تأثیر هوادهی بر راندمان حذف ارتوفسفات نشان می‌دهد که در تیمارهای حاوی ریزجلبک و با هوادهی، راندمان حذف به مراتب بیشتر از تیمارهای مشابه و بدون هوادهی است. بنابراین هوادهی با تأثیر بر تعامل بین ریزجلبک و باکتری، راندمان حذف ارتوفسفات را افزایش می‌دهد به‌طوری که با تأمین اکسیژن برای تنفس باکتری و تولید CO_2 بیشتر برای فتوسنتز ریزجلبک، رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها افزایش می‌یابد.

در تیمارهای بدون ریزجلبک و با هوادهی ۲/۵ و ۱ لیتر بر دقیقه و بدون هوادهی، نرخ کاهش ارتوفسفات به‌ترتیب ۲/۹۵، ۳/۷۲ و ۵/۵۴ درصد است. این کاهش در PO_4^{3-} -P اندازه‌گیری شده تا روز چهاردهم حاصل گردید. این کاهش بر اثر ادامه روند تشکیل رسوب و تأثیر باکتری در محیط است. باکتری علی‌رغم جذب ارتوفسفات، در شرایط هوازی، ترکیبات فسفرآلی را به ارتوفسفات تبدیل می‌کند که این امر باعث می‌شود راندمان حذف آن در تیمارهای با هوادهی بالا نسبت به تیمار بدون هوادهی و یا هوادهی کمتر، کاهش یابد.

تحلیل واریانس دو طرفه[6] برای مقایسه مقادیر میانگین غلظت ارتوفسفات در روزهای مختلف و بین تیمارهای مختلف انجام شد. مقادیر F که برای غلظت ارتوفسفات در تیمارهای مختلف ۷/۷۸ و برای غلظت در طول زمان ۱۷/۳۸ می‌باشد کوچک‌تر از F جدول (به‌ترتیب ۱/۹۱ و ۲/۰۵) است، بنابراین در سطح α =۰/۰۵ اختلافها معنی‌دار بوده و فرض برابری میانگین‌ها رد می‌شود. همچنین P-value آزمون فوق ۰/۰۰۰۱ > است. نتایج آزمون دانکن[7] نیز در سطح ۹۵ درصد اختلاف معنی‌دار در غلظت ارتوفسفات تیمارهای آزمایشی در روز آخر را نشان داد.

۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش، ریزجلبک *کلامیدوموناس* در ژل آلژینات تثبیت شده و عملکرد آن از نظر حذف ارتوفسفات از پساب با ریزجلبک آزاد در مقادیر متفاوت هوادهی مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که تیمارهای ریزجلبک تثبیت شده دارای بالاترین میانگین نرخ کاهش ارتوفسفات (۱۰/۲۹ درصد در روز) در مقایسه با تیمارهای ریزجلبک آزاد و بدون ریزجلبک (به‌ترتیب دارای میانگین نرخ کاهش ۷/۴۰ و ۴/۰۷ درصد در روز) هستند. همچنین افزایش میزان هوادهی در تیمارهای حاوی ریزجلبک بر تعامل بین ریزجلبک و باکتری تأثیر گذاشته به‌طوری که باعث افزایش رشد و فعالیت میکروارگانسیم‌ها در محیط شده و حذف مقادیر بیشتر ارتوفسفات را توسط ریزجلبک به‌همراه دارد. اما افزایش میزان هوادهی در تیمارهای بدون ریزجلبک موجب تبدیل بیشتر ترکیبات فسفر آلی به ارتوفسفات شده و راندمان حذف ارتوفسفات را در تیمارهای با هوادهی بیشتر کاهش می‌دهد.

[1] Thakur
[2] Kumar
[3] *Dunaliella Salina*
[4] Lau et al.
[5] Chlorella Vulgaris

[6] Two-way ANOVA
[7] Duncan

۵- مراجع

1- de- Bashan, L. E., and Bashan, Y. (2010). "Immobilized microalgae for removing pollutants: Review of practical aspects. " *Bioresource Tech*., 101, 1611-1627.

2- Lau, P. S., Tam, N. F. Y., and Wong, Y. S. (1997). "Wastewater nutrients (N and P) removal by carrageenan and alginate immobilized chlorella vulgaris." *Env. Technol*., 18, 945-951.

3- Trepanier, C., Parent, S., Comeau, Y., and Bouvrette, J. (2002). "Phosphorus budget as a water quality management tool for closed aquatic mesocosms. " *Water Res*., 36,1007-1017.

4- Martinenz, M. E., Sanchez, S., Jimenez, J. M., El Yousfi, F., and Munoz, L. (2000). "Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*." *Bioresource Tech*., 73, 263-272.

5- Grobbelaar, J. U., Soeder, C. J., Groeneweg, E. S., and Hartig, P. (1988). "Rates of biogenic oxygen production in mass-cultures of microalgae, absorption of atmospheric oxygen and oxygen availability for wastewater treatment." *Water Res*., 22, 1459-1464.

6- Munoz, R., Kollner, C., and Guieysse, B. (2004). "Photosynthetically oxygenated salicylate biodegradation in a continuous stirred tank photobioreactor." *Biotechnol. Bioeng*., 87 (6), 797-803.

7- Oswald, W. J. (1988). "Micro-algae and wastewater treatment." Borowitzka, M.B.L. (Eds.). *Micro-algal Biotechnology*, Cambridge University Press, Cambridge.

8- de-Bashan, L. E., Trejo, A., and Huss, V. A. R. (2008). "Chlorella sorokiniana UTEX 2805, a heat and intense, sunlight-tolerant microalga with potential for removing ammonium from wastewater." *Bioresource Tech*., 99, 4980-4989.

9- Fierro, S., Sanchez-Saavedra, M. D. P., and Copalcua, C. (2007). "Nitrate and phosphate removal by chitosan immobilized Scenedesmus." *Bioresource Tech*., 99 (5), 1274-1279.

10- Shi, J., Podola, B., and Melkonian, M. (2006). "Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae immobilized on twin layers." *J. Appl. Phycol*., 19 (5), 417-423.

11- Chojnacka, K., Chojnacki, A., and Gorecka, H. (2005). "Biosorption of Cr^{3+}, Cd^{2+} and Cu^{2+} ions by blue–green algae *Spirulina sp*.: Kinetics, equilibrium and the mechanism of the process." *Chemosphere*, 59, 75-84.

12- Yu, R-Q., and Wang, W-X. (2004). "Biokinetics of cadmium, selenium, and zinc in freshwater alga *Scenedesmus obliquus* under different phosphorus and nitrogen conditions and metal transfer to *Daphnia magna*." *Environ. Pollut*., 129, 443-456.

13- Semple, K. T., Cain, R. B., and Schmidt, S. (1999). "Biodegradation of aromatic compounds by microalgae." *FEMS Microbiol. Lett*., 170, 291-300.

14- Ghasemi, Y., Moradian, A., Mohagheghzadeh, A., Shokravi, S., and Morowvat, M. H. (2007). "Antibacterial activity of the microalgea collected from paddy fields of Iran: Characterization of antimicrobial activity of chroococcus disperses." *J. of Biological Science*, 7 (6), 904-910.

15- Robinson, P. K. (1998). "Immobilized algal technology for wastewater treatment purposes." *Wastewater Treatment with Algae*, Springer-Verlag and Landes Bioscience, New York, 1-16.

16- Schumacher, G., Blume, T., and Sekoulov, I. (2003). "Bacteria reduction and nutrient removal in small wastewater treatment plants by an algal biofilm." *Water Sci. Technol*., 47, 195-202.

17- Nunez, V. J., Voltolina, D., Nieves, M., Pina, P., Medina, A., and Guerrero, M. (2001). "Nitrogen budget in *Scenedesmus obliquus* cultures with artificial wastewater." *Bioresource Tech*., 78, 161-164.

18- Rasoul-Amini, S., Ghasemi,Y., Morowvat, M. H., and Mohagheghzadeh, A. (2009). "PCR amplification of 18S rRNA, single cell protein production and fatty acid evaluation of some naturally isolated microalgae." *Food Chemistry*, 116, 129-136.

19- Liang, S., Liu, X., Chen, F., and Chen, Z. (2004). "Current microalgal health food R & D activities in China." *Hydrobiologia*, 512, 45-48.

20- Munoz, R., Jacinto, M. S. A., Guieysse, B., and Mattiasson, B. (2005). "Combined carbon and nitrogen removal from acetonitrile using algal–bacterial reactors." *Appl. Microbiol. Biotechnol*., 67 (5), 699-707.

21- Sawayama, S., Minowa, T., and Yokoyama, S. Y. (1999). "Possibility of renewable energy production and CO_2 mitigation by thermochemical liquefaction of microalgae." *Biomass Bioenergy*, 17 (1), 33-39.

22- Mallick, N. and Rai, L. C. (1994). "Removal of inorganic ions from wastewater by immobilized microalgae." *World J. Microbiol Biotechnol*., 10, 439-443.

23- Tam, N. F. Y., and Wong, Y. S. (2000). "Effect of immobilized microalgae bead concentrations on wastewater nutrient removal." *Envir. Pollution*, 107 (1), 145-151.

24- Travieso, L., Benitez, F., Weiland, P., Sanchez, E., Dupeyron, R., and Dominguez, A. R. (1996). "Effect of immobilization on microalgae for nutrient removal in wastewater treatments." *Bioresource Technol*., 55, 181-186.

25- Mostajeran, A., Yahyabady, S., and Emtiaz, G. (2006). "Reduction of high organic loading of industrial wastewater using green alge (*Spirogyra SP*) and blue-green algo (*Oscillatoria* SP. and *anobaena* S.P)." *J. of Water and Wastewater*, 57, 37-46. (In Persian)
26- Bina, B. (2005). "Efficiency of small scale hydroponics wastewater treatment." *J. of Water and Wastewater*, 52, 89-46. (In Persian)
27- Mallick, N. (2002). "Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N, P and metal removal: A review." *Biometals*, 15, 377-390.
28- Moreira, S. M., Moriera-Santos, M., Guilhermino, L., and Ribeiro, R. (2006). "Immobilization of the marine microalga *Phaeodactylum tricornutum* in alginate for in situ experiments: Bead stability and suitability." *Enzyme and Microbial Tech*., 38, 135-141.
29- Moreno-Garrido, I. (2008). "Microalgae immobilization: Current techniques and uses." *Bioresource Tech*., 99 (10), 3949-3964.
30- Cybercolloieds, "Alginate". (2007). < http:// www.cybercolloids.net/ library/ alginate/ structure.php> (Apr. 6, 2009).
31- Zamani, N., Noushadi, M., Amin, S., Ghasemi, Y., and Niazi, A. (2009). "Nitrate-nitrogen and orghophosphate removal from wastewater using biotechnology-microalgae." *2nd International Symposium on Environmental Engineering*, <http://www.civilca.com/paper-ISOEE02_014 html> (May, 15 2012). (In Persian)
32- Lee Joeng, M., Gillis, J. M., and Hwang, J. Y. (2003). "Carbon dioxide mitigation by microalgae photosynthesis." *Bull. Korean Chem*. Soc., 24, 1763- 1766.
33- APHA. (2005). *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 18th Ed., American Public Health Association, Washington, DC.
34- Emrahimi, S., and Keynejad, M.A. (2004). *Environmental engineering (Water and wastewater treatment)*, 2nd Ed., Sahand University of Technology, Tabriz. (In Persian)
35- Alizadeh, A. (2005). *Water, soil and crop relationships,* Ferdowsi University, Mashhad. (In Persian)
36- Thakur, A., and Kumar, H. D. (1999). "Use of natural polymers as immobilizing agents and effects on the growth of dunaliella salina and its glycerol production." *Acta Biotechnologica*, 19, 37- 44.