

## حذف نیتروژن آمونیومی و ارتوفسفات از پساب شهری با استفاده از سلول‌های تثبیت شده ریزجلبک

داریوش عربیان<sup>\*</sup>، پیوند امیری<sup>‡</sup>

<sup>\*</sup> استادیار، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، مجتمع دانشگاهی علوم کاربردی،<sup>‡</sup> کارشناس ارشد، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، مجتمع دانشگاهی علوم کاربردی.

### چکیده

**ساقبه و هدف:** ارائه راهکارهای سودمند و طرح‌هایی هدفمند به دلیل کمبود منابع آب به منظور مصرف بهینه منابع آب و نیز ایجاد کیفیت مطلوب پساب‌ها ضروری است. این مطالعه با هدف ارزیابی حذف نیتروژن آمونیومی و ارتوفسفات از پساب شهری با استفاده از دو گونه ریزجلبک انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در ابتدا سلول‌های کشت شده ریزجلبک‌های کلرلا و اووسیستیس با محلول سدیم آلزینات ۴ درصد مخلوط شدند. محلوت حاصل به محلول کلسیم کلراید اضافه شد تا گویچه‌های از جنس آلزینات که حاوی سلول‌های ریزجلبک می‌باشد تشکیل شود. برای اندازه گیری رشد سلولی از روش شمارش بالام نشیبار استفاده شد. میزان حذف نیتروژن و ارتوفسفات از پساب به ترتیب با استفاده از روش جذب نوری با واکنش با معرف‌های نسلر و آرمستانگ انجام گردید.

**یافته‌ها:** گونه اووسیستیس پس از گذشت ۱۴ روز از تیمار حدود ۶۵/۲ درصد از نیتروژن آمونیومی محیط را حذف نمود. بازده کلی حذف ارتوفسفات نیز ۶۹ درصد بود. در تیمار ریزجلبک کلرلا تا روز چهارم حذف نیتروژن آمونیومی ۷۴/۳ درصد و در روز هفتم ۱۰۰ به درصد رسید. بازده کلی حذف ارتوفسفات نیز ۶۲/۲۷ درصد بود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد که در شرایط طراحی شده جلبک کلرلا توانایی مناسبی در حذف نیتروژن و فسفر از پساب را دارد.

**وازگان کلیدی:** کلرلا، اووسیستیس، پساب، نیتروژن آمونیومی، ارتوفسفات.

**دریافت مقاله:** اردیبهشت ماه ۹۶ **پذیرش برای چاپ:** تیر ماه ۹۶

### مقدمه

تصفیه کامل تر پساب است (۱-۳). روش‌های مختلفی در تصفیه از جمله فرآیندهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی برای حذف این آلاینده‌ها به کار رفته است. اما از میان روش‌های موجود فرآیندهای بیولوژیکی که در آن عوامل زیستی تأثیرگذار هستند، نسبت به روش‌های شیمیائی مورد توجه بیشتری قرار گرفته است (۱ و ۴). در بیوتکنولوژی زیست محیطی بیشتر توجه بر ارگانیسم‌های تک سلولی به ویژه جلبک‌ها است که در کیفیت و کنترل آلودگی آب مؤثر می‌باشند (۵). عناصر ضروری در رشد جلبک‌ها، کربن، هیدروژن، اکسیژن، نیتروژن، فسفر و سولفور آهن می‌باشد که از

افزایش جمعیت و تقاضای آب به این معنی است که در آینده بسیار نزدیک باید از منابع آب آلوده شده بیشتری برای رفع نیازها استفاده نمود. سیستم تصفیه پساب شامل فرآیندهایی است که باعث کاهش اجزای تشکیل دهنده مشخصی از پساب تا اندازه قابل قبول می‌گردد. نگاه اجمالی به تاریخچه تصفیه نشان می‌دهد که تصفیه پساب‌ها در اوایل قرن بیستم و با حذف مواد معلق وآلی از پساب شروع شد. اما با گذشت زمان و پیدایش شرایط نامناسب زیست محیطی، تلاش متخصصان

\* آدرس برای مکاتبه: اصفهان، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، مجتمع دانشگاهی علوم کاربردی.

تلفن: ۰۳۱۳۶۲۹۲۳۵۷ پست الکترونیک: [darabian@mut.ac.ir](mailto:darabian@mut.ac.ir)

محققان دیگری نیز در سال‌های اخیر تصفیه انواع پساب با استفاده از سلول‌های ثبیت ریزجلبک‌ها را مورد بررسی قرار داده‌اند (۱۳-۱۸). تحقیقاتی نیز در رابطه با استفاده همزمان از میکروجلبک‌های ثبیت شده و باکتری در تصفیه پساب صورت گرفته که از آن جمله می‌توان به بررسی آماویزکا (Amavizca) و همکاران در سال ۲۰۱۷ اشاره کرد که منجر به افزایش راندمان حذف نیتروژن و فسفر گردیده است (۱۹).

هدف از این مطالعه ارزیابی دو گونه مختلف ریزجلبک کلرلا و اووسیستیس از نظر بازده حذف نیتروژن- آمونیومی و ارتوفسفات از پساب شهری بود. همچنین عملکرد گونه‌ای که بالاترین بازده حذف  $\text{NH}_4^+$ -N و  $\text{PO}_4^{3-}$ -P را داشت، در شرایط مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش ها

(الف) تهیه و کشت ریزجلبک: در این مطالعه گونه‌های ریزجلبک کلرلا و اووسیستیس از مرکز کلکسیون شیلات انزلی تهیه گردیدند. واکشت ریزجلبک‌ها در محیط BG-11 که محیط کشت جلبک‌های سبز-آبی می‌باشد، صورت گرفت. ترکیبات این محیط در جدول ۱ نشان داده شده است (۲۰). پس از تهیه محیط کشت، ۱۰۰ میلی لیتر از آن در ارلن‌های استریل ریخته شد. مقداری از ریزجلبک‌های مورد مطالعه به آن اضافه شدند و در اتاق کشت در دمای ۲۱ °C و شدت نور ثابت ۱۰۰۰ لوکس قرار گرفتند. برای شمارش تعداد سلول از نتابار هموسیوتومتر استفاده شد.

(ب) اندازه‌گیری نیتروژن و فسفر: اندازه‌گیری نیتروژن بر اساس میزان نیتروژن-آمونیومی و فسفر براساس اورتوفسفات با روش استاندارد اندازه‌گیری آب و پساب بر روی نمونه‌های پساب خروجی تصفیه خانه دانشگاه صنعتی مالک اشتر به وسیله اسپکتروفوتومتر مدل T80+ UV/VIS انجام شد.

(ج) اندازه‌گیری نیتروژن-آمونیومی: به ۲ میلی لیتر از نمونه‌های حاوی غلظت‌های مختلف نیتروژن آمونیومی و نمونه پساب ۳۴۰ میکرولیتر معرف نسلر (که با حل کردن ۵۰ گرم پتاسیم بداعی در ۵۰ میلی لیتر آب سرد و ۲۲ گرم کلرید جیوه در ۳۵۰

مواد معدنی حل شده در آب، پساب یا خود آب به دست می‌آورند (۵). کاربرد جلبک در تصفیه پساب براساس اصول اکسیستم طبیعی نهاده شده، در نتیجه از نظر زیست محیطی مضر نمی‌باشد. همچنین قابلیت بازیافت مناسب مواد مغذی (نیتروژن و فسفر) از پساب را داشته و در صورت بازصرف توده زیستی (biomass) تولیدی، هیچ گونه آلودگی ثانویه‌ای ایجاد نمی‌گردد (۶ و ۷).

در مقایسه با سیستم‌های لجن فعال، تکنولوژی ساده‌تر و مصرف انرژی کمتری داشته و تولید فتوستنتزی اکسیژن می‌تواند جایگزین هواده‌ی مکانیکی در روش‌های متداول تصفیه شود (۸-۶). در تصفیه بیشتر از ریزجلبک‌هایی مانند کلرلا (*Chlamydomonass*), کلامیلوموناس (*Chlorella*)، سینی دسمس (*Oocystis*) و اووسیستیس (*Scenedesmus*) استفاده می‌شود. این چهار گونه از گروه کلروفیت‌ها بوده و در بسیاری از آب‌های شیرین یافت می‌شوند (۵، ۹ و ۱۰). اووسیستیس، یک جلبک سبز میکروسکوپی است. به صورت کلنسی هایی ۲ تا ۸ تک سلولی است که به صورت دسته ای می‌باشد. در این کلنسی‌ها هر تک سلول می‌تواند به تنها یی زنده بماند و به فعالیت خود ادامه دهد. از آنجایی که ایران در لیست کشورهایی قرار دارد که تا سال ۲۰۲۵ قطعاً با کمبود منابع آب مواجه خواهد شد، بنابراین ارائه راهکارهای سودمند و اجرای طرح‌ها در راستای کاهش و مصرف بهینه منابع آب موجود و نیز ایجاد کیفیت مطلوب پساب‌ها در کاربری‌های مختلف، امری لازم و ضروری است. در این زمینه تحقیقات مختلفی در کشورهای مختلف صورت گرفته است.

به عنوان نمونه جایسودا (Jaysudha) و همکاران در سال ۲۰۱۳ با استفاده از ریزجلبک ثبیت شده کلرلا سالینا به بازده ۹۹/۳۹ درصد دست یافتند. در حالی که با استفاده از سلول‌های آزاد تنها ۳۷ درصد حذف فسفات به دست آورده‌اند (۱۱). در ایران نیز می‌توان به تحقیقات شاکر (Shaker) و همکاران در سال ۲۰۱۵ اشاره کرد که حذف ارتوفسفات (راندمان ۹۹ درصد) با استفاده از سلول‌های ثبیت شده کلرلا ولگاریس مورد بررسی قرار گرفت (۱۲).

جدول ۱: ترکیبات محیط کشت مورد استفاده.

Trace-element (در ۱ لیتر محلول)		محیط کشت	
ماده شیمیائی	میزان ماده (گرم)	ماده شیمیائی	میزان ماده (گرم)
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	۲/۸۶	NaNO <sub>3</sub>	۱/۵
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	۱/۸۱	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	۰/۰۴
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	۰/۲۲۲	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	۰/۰۷۵
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	۰/۳۹	CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	۰/۰۳۶
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	۰/۷۹	Citric acid	۰/۰۰۶
Co (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	۰/۰۴۹۴	Ferric ammonium citrate	۰/۰۰۶
		Na <sub>2</sub> - EDTA	۰/۰۰۱
		Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	۰/۰۲
		Trace-element solution	۱ میلی لیتر

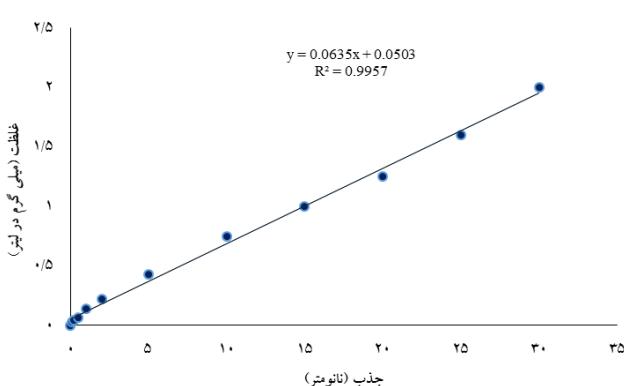
تارتارات پتاسیم آنتی مونی به آن اضافه گردید. محلول حاصل با گرما کردن حل شد. پس از خنک شدن به کمک آب مقطر تا حجم یک لیتر رقیق گردید (۶). همانند روش نیترات معادله دستگاه با استفاده از غلظت‌های مختلف K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> به دست آورده شد. غلظت‌های مورد استفاده ۰-۰/۲۵-۰/۱۲۵-۰/۰۵-۰-۱-۰-۵-۱۵-۲۰-۲۵-۳۰ میلی گرم بر لیتر بود. جذب حاصل ۰، ۰/۰۲۵۶، ۰/۰۴۴، ۰/۰۶۸، ۰/۱۴، ۰/۲۱۸، ۰/۴۲۵، ۰/۰۷۵، ۱/۰۲، ۱/۰۲۵، ۱/۰۲۵، ۰/۰۷۵، ۱/۰۲۵، ۰/۰۷۵ به دست آمد (نمودار ۲). این معادله به صورت زیر بود (۲۱):

$$\text{PO}_4^{3-}\text{-P Conc. (mg/L)} = A X_{880\text{ nm}}$$

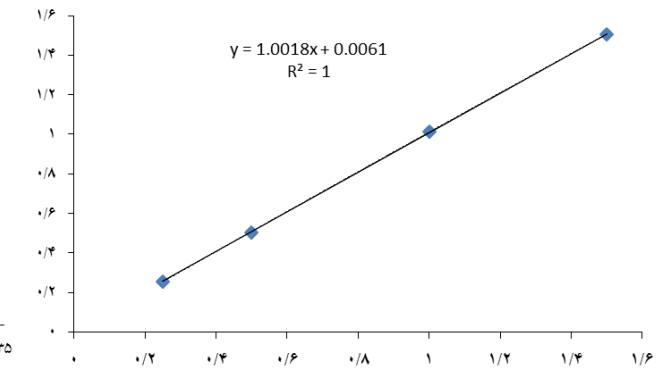
(۶) اندازه گیری میزان کلروفیل *a* در این آزمایش از سوسپانسون جلبک و استون ۸۰ درصد استفاده گردید. ابتدا در هر لوله ۳ میلی لیتر از سوسپانسیون جلبک اضافه شد و به مدت

۵ دقیقه جذب آب مقطر (اشباع) به همراه ۲۰۰ میلی لیتر سود نرمان به دست آمده بود) اضافه گردید. منحنی استاندارد مربوطه در نمودار ۱ نشان داده شده است. همچنین غلظت‌های مورد استفاده ۰/۰۵، ۰/۰۷۵، ۰/۱۲۵، ۱، ۱/۰۲۵، ۱/۰۷۵ میلی گرم بر لیتر بود. مقدار جذب آنها به ترتیب ۰/۰۵۰۶، ۰/۰۷۸۵، ۰/۰۵۰۵، ۰/۰۱۳، ۱/۰۲۵ و ۱/۰۰۶ به دست آمد.

(۷) اندازه گیری ارتو فسفات: به ۵۰ میلی لیتر از نمونه‌های حاوی غلظت‌های مختلف ارتوفسفات و نمونه پساب ۵ میلی لیتر محلول آرمسترانگ اضافه گردید. سپس ۱ میلی لیتر اسید آسکوربیک به مخلوط افزوده شد. پس از گذشت ۲۰ دقیقه جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۸۸۰ نانومتر بررسی گردید. برای تهیه محلول آرمسترانگ، ۱۲۲ میلی لیتر H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> غلیظ با آب مقطر تا ۸۰۰ میلی لیتر رقیق گردید. در ادامه ۵۵/۱ گرم مولیبدات آمونیوم و ۰/۳ گرم



نمودار ۲: منحنی استاندارد فسفر.



نمودار ۱: منحنی استاندارد نیتروژن آمونیومی.

دستگاه قرار داده شدند و عدد مربوطه در طول موج ۶۰۰ نانومتر معادل مقدار سلول حسب میلی گرم در لیتر می‌باشد. به منظور بررسی عملکرد ریزجلبک‌ها در شرایط طبیعی و بدون اعمال هیچ گونه تغییرات در نمونه پساب، غلاظت‌های نیتروژن-آمونیومی و ارتوفسفات همان غلاظت اولیه در نمونه اصلی پساب در نظر گرفته شد. میزان ۴/۶ اولیه نیتروژن-آمونیومی در پساب (در شرایط طبیعی) برابر ۴/۶ میکرومول در میلی لیتر و میزان ارتوفسفات ۸۲/۳۵ میلی گرم در لیتر اندازه گیری گردید (۲).

ز) تثبیت سلول‌های ریزجلبک: برای این منظور سلول‌های ریزجلبک درون محیط BG-11 کشت داده شدند. هر روز تعداد سلول‌های ریزجلبک شمارش شدند. زمانی که تعداد سلول‌ها به مقدار  $1 \times 10^7$  در هر میلی لیتر رسید، حجم مساوی از سلول‌های ریزجلبک با حجم مساوی از محلول سدیم آژینات ۴ درصد که قبلاً تهیه و اتوکلاو شده بود مخلوط گردید. سپس مخلوط حاصل به وسیله سرنگ به محلول کلراید کلسیم به صورت قطره قطره اضافه شد تا گویچه‌های آژینات کلسیم حاوی سلول‌های ریزجلبک تشکیل شود. اندازه نهایی گویچه‌ها ۵ میلی متر بود. سپس تعداد ۳ عدد از این گویچه‌های آژیناتی به ازای هر میلی لیتر از پساب، درون اrlen ریخته شد و ۵۰ میلی لیتر از پساب به آن اضافه گردید (۲۳).

### یافته‌ها

با ترسیم منحنی رشد سلول‌های ریزجلبک زمان شروع رشد هر ریزجلبک و میزان رشد آن در طول مدت زمان مشخص (۱۴ روز) محاسبه گردید تا بتوان بهترین زمان را برای انجام آزمون انتخاب نمود. انتظار می‌رفت زمانی که ریزجلبک در فاز رشد لگاریتمی باشد، بهترین زمان برای انجام آزمایش و بررسی میزان حذف نیتروژن و فسفر توسط ریزجلبک باشد. با توجه به منحنی‌های رشد در نمودارهای ۳ و ۴ به طور متوسط شروع زمان رشد ریزجلبک‌های مورد آزمایش روز سوم در نظر گرفته شد.

(الف) بازده حلق نیتروژن-آمونیومی توسط گونه‌های مختلف

۱۰ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. روماند به آرامی جدا شد و به رسوب جلبک ۳ میلی لیتر استون ۸۰ درصد اضافه گردید. مخلوط حاصل ورتكس شد و سپس ۱۰ دقیقه مجددًا سانتریفیوژ گردید. روماند جدا شد و جذب نور در طول موج های  $668/2$  و  $668/8$  نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری گردید. سپس با فرمول ارائه شده میزان کلروفیل a بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر سوسپانسیون محاسبه شد (۲۲).

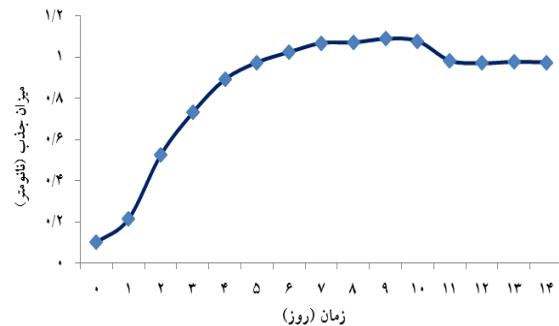
$$\text{Chl.a (mg/ml)} = 12.25 \times A 668.2 - 2.79 \times A 646.8$$

ه) بررسی عملکرد ریزجلبک: نمونه‌های پساب از بخش خروجی تصفیه خانه دانشگاه صنعتی مالک اشتر تهیه شد. نمونه‌ها پس از عبور از کاغذ صافی، ها در اrlen های دریپوشیده ریخته شدند و در دستگاه اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه در دما ۱۲۱ °C استریل شدند. به هر اrlen حاوی ریزجلبک، مقدار ۱۰۰ میلی لیتر پساب استریل اضافه گردید. در اتاق کشت دما ثابت و ۲۵ °C بود. میزان شدت نور به صورت مداوم و توسط لامپ‌های مهتابی سفید رنگ که در بالای شیکر نصب شده بود ۴۱۵۰ واحد لوکس (ca 4150 1x) در نظر گرفته شد. میزان شدت نور با استفاده از لوکس متر اندازه گیری گردید. همچنین میزان سرعت شیکر ۱۳۰ rpm و به صورت مداوم بود. سه اrlen حاوی پساب به عنوان شاهد و برای هر نمونه ریزجلبک، سه اrlen حاوی پساب و ریزجلبک مورد آزمایش قرار گرفتند. برای تمامی گونه‌ها سه تکرار در نظر گرفته شد. در دوره ۱۴ روزه آزمون، در روزهای اول، سوم، ششم، هشتم، دهم، دوازدهم و چهاردهم ۳ میلی لیتر نمونه از هر اrlen برداشت شد و در آزمایشگاه اندازه گیری نیتروژن، فسفر و شمارش سلولی انجام شد. میزان کلروفیل a نیز در روز اول و آخر اندازه گیری شد (۳).

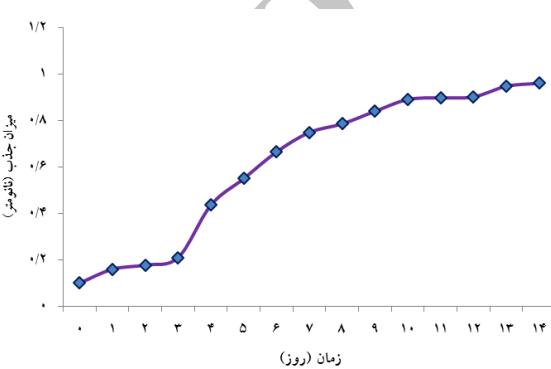
و) اندازه گیری میزان سلول و رسم منحنی رشد: به منظور اندازه گیری میزان سلول کاربردی اولیه برای هر تیمار، از دستگاه اسپکتروفتومتر و طول موج ۶۰۰ نانومتر استفاده شد. از محیط کشت BG-11 به عنوان شاهد در کالیبره کردن دستگاه استفاده شد. نمونه‌های ریزجلبک که در محیط کشت قرار داشتند در

آمونیومی ثابت بود. به منظور بررسی دقیق‌تر نحوه تغییرات در مقادیر نیتروژن-آمونیومی و عملکرد ریزجلبک‌ها، بازده حذف در دوره‌های ۴ روزه در جدول ۲ نشان داده شده است. بدین صورت که در قسمت الف مقدار عددی در روز اول از هر کدام از روز‌ها کم شده و در قسمت ب نیز به عنوان مثال مقدار عددی روز اول از روز چهارم و روز چهارم از روز هفتم و ... کم شده است. اعداد مثبت در جدول بیانگر بازده حذف و اعداد منفی بیانگر بازده افزایش در نیتروژن آمونیومی می‌باشد. بازده حذف در تمامی تیمارها مثبت شد که نشان دهنده کاهش در نیتروژن آمونیومی محیط می‌باشد. در تیمار ریز جلبک ۲۰/۴۳ اووسیستیس تا روز چهارم حذف نیتروژن آمونیومی ۲۰/۴۳ درصد و تا روز هفتم ۳۲/۶ درصد بود. همچنین حذف نیتروژن آمونیومی تا روز دهم ۳۹/۱ درصد است. بازده کلی حذف نیتروژن آمونیومی در تیمار به وسیله اووسیستیس ۶۵/۲ درصد گزارش شد. در این تیمار میزان حذف نیتروژن آمونیومی بین روزهای اول تا چهارم، چهارم تا هفتم، هفتم تا دهم و دهم تا چهاردهم به ترتیب ۲۰/۴۳، ۵/۶، ۲۰/۴۳ و ۲۴/۷ درصد بود. در تیمار ریز جلبک کلرلا تا روز چهارم حذف نیتروژن آمونیومی ۷۴/۳ درصد و تا روز هفتم ۱۰۰ درصد بود.

(ب) بازده حذف ارتوفسفات توسط گونه‌های مختلف ریز جلبک در پساب شهری: مقادیر اندازه گیری شده نیتروژن-آمونیومی در تیمارها، ۴/۶ میکرو مول در میلی لیتر بود. این نمودار ۵ نشان داده شده است. متوسط مقدار اولیه نیتروژن-آمونیومی در تیمارها، ۴/۶ میکرو مول در میلی لیتر بود. این میزان در مدت ۱۴ روز در تمامی تیمارهای حاوی ریزجلبک کاهش یافت و در تیمار ریزجلبک کلرلا به کمترین مقدار یعنی صفر در روز پنجم رسید. اما در تیمار شاهد (Blank) نیتروژن-



نمودار ۳: منحنی رشد ریز جلبک /اووسیستیس در مدت زمان ۱۴ روز.

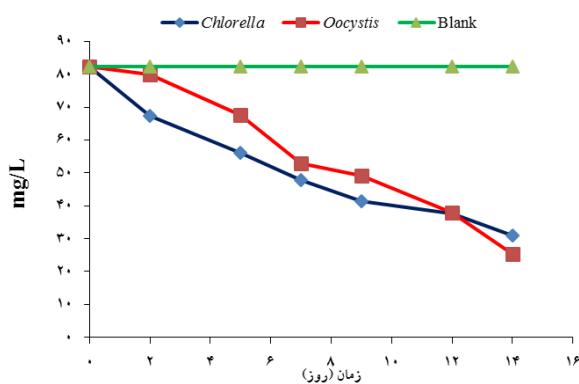


نمودار ۴: منحنی رشد ریز جلبک کلرلا در مدت زمان ۱۴ روز.

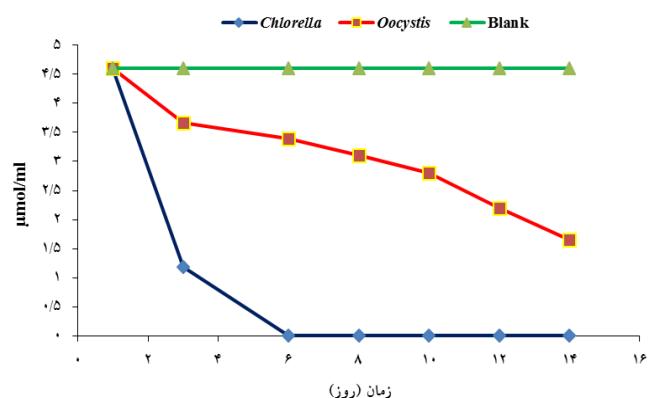
ریز جلبک در پساب شهری: مقادیر اندازه گیری شده نیتروژن-آمونیومی نمونه‌ها در مدت زمان ۱۴ روز و نحوه تغییرات در نمودار ۵ نشان داده شده است. متوسط مقدار اولیه نیتروژن-آمونیومی در تیمارها، ۴/۶ میکرو مول در میلی لیتر بود. این میزان در مدت ۱۴ روز در تمامی تیمارهای حاوی ریزجلبک کاهش یافت و در تیمار ریزجلبک کلرلا به کمترین مقدار یعنی صفر در روز پنجم رسید. اما در تیمار شاهد (Blank) نیتروژن-

جدول ۲: بازده حذف نیتروژن-آمونیومی در تیمارهای مختلف در دوره‌های ۴ روزه در پساب تصفیه خانه فاضلاب.

تیمار (الف)	روز			
	۴-۱	۷-۱	۱۰-۱	۱۴-۱
شاهد	.	.	.	.
<i>Oocystis sp.</i>	(٪/۲۰/۴۳) ۰/۹۴	(٪/۳۲/۶) ۱/۵	(٪/۳۹/۱) ۲/۴	(٪/۶۵/۲) ۲/۹۴
<i>Chlorella sp.</i>	(٪/۱۰۰) ۴/۶	۴/۶	۴/۶	۴/۶
تیمار (ب)	۴-۱	۷-۴	۱۰-۷	۱۴-۱۰
شاهد	.	.	.	.
<i>Oocystis sp.</i>	(٪/۲۰/۴۳) ۰/۹۴	(٪/۵/۶) ۰/۵۶	(٪/۱۳) ۰/۳	(٪/۲۴/۷) ۱/۲
<i>Chlorella sp.</i>	(٪/۷۴/۲) ۶/۴	(٪/۱۰۰) ۰	۰	۰



نمودار ۶: تغییرات ارتوفسفات در تیمارهای مختلف در مدت ۱۴ روز در پساب شهری.



نمودار ۵: تغییرات نیتروژن-آمونیومی در تیمارهای مختلف در مدت ۱۴ روز در پساب.

روز دهم ۴۰/۲۵ درصد است. بازده کلی حذف نیتروژن آمونیومی در تیمار به وسیله اروسیستیس ۶۹ درصد به دست آمد. در این تیمار میزان حذف ارتوفسفات بین روزهای اول تا چهارم، چهارم تا هفتم، هفتم تا دهم و دهم تا چهاردهم به ترتیب ۳، ۱۵/۴۲، ۱۵/۴۲، ۲۲/۲ و ۲۸/۸ بود.

میزان کلروفیل a در تیمارهای مختلف ریزجلبک: مقدار اندازه گیری شده کلروفیل a در روز اول برای ریزجلبک‌های کلرلا و اروسیستیس به ترتیب ۰/۴۸۵ و ۰/۵۶ بود. این میزان در روز چهاردهم آزمون برای تیمارهای مختلف ریزجلبک به ترتیب به ۰/۷۶۹ و ۰/۶۷۷ رسید.

### بحث

به منظور بهبود کیفیت پساب خانگی و به حداقل رساندن آلاینده‌ها از جمله ترکیبات نیتروژن و فسفر، باید سیستم‌های ریزجلبک به ترتیب به ۰/۷۶۹ و ۰/۶۷۷ رسید.

حاوی ریزجلبک کاهش یافت. به طوری که در تیمارهای اروسیستیس به کمترین مقدار یعنی ۲۵/۶ میلی گرم در لیتر رسید. به منظور بررسی دقیق تر نحوه تغییرات در مقادیر ارتوفسفات و عملکرد ریزجلبک‌ها، بازده حذف در دوره‌های ۴ روزه در جدول ۳ آرائه شده است. در تیمار ریزجلبک کلرلا تا روز چهارم حذف ارتوفسفات ۱۸/۱ درصد و تا روز هفتم ۳۱/۷۷ درصد بود. همچنین حذف ارتوفسفات تا روز دهم ۴۹/۷۹ درصد است. بازده کلی حذف نیتروژن ارتوفسفات در تیمار به وسیله کلرلا ۶۲/۲۷ درصد بود. در این تیمار میزان حذف ارتوفسفات بین روزهای اول تا چهارم، چهارم تا هفتم، هفتم تا دهم و دهم تا چهاردهم به ترتیب ۱۶/۶۷، ۱۸/۱، ۲۶/۴۱ و ۲۴/۸۴ درصد گزارش شد. در تیمار ریزجلبک اروسیستیس تا روز چهارم حذف ارتوفسفات ۳ درصد و تا روز هفتم ۱۷/۹۸ درصد بود. همچنین حذف نیتروژن آمونیومی تا

جدول ۳: بازده حذف ارتوفسفات (mg/l) در تیمارهای مختلف در دوره‌های ۴ روزه در پساب تصفیه خانه فاضلاب.

تیمار (الف)	روز			
	۴	۷	۱۰	۱۴
شاهد	۰	۰	۰	۰
<i>Oocystis</i> sp.	۱۴/۸۱	۲۹/۵۳	۳۳/۱۵	(٪۶۹) ۵۶/۸۹
<i>Chlorella</i> sp.	۲۶/۱۷	(٪۳۱/۷۷) ۳۴/۶۴	(٪۴۹/۷۹) ۴۱/۱۰	(٪۱۸/۱) ۵۱/۲۸
تیمار (ب)	۴-۱	۷-۴	۱۰-۷	۱۴-۱۰
شاهد	۰	۰	۰	۰
<i>Oocystis</i> sp.	(٪۳) ۱۴/۸۱	(٪۱۵/۴۲) ۱۴/۷۲	(٪۲۲/۲) ۲۳/۶۲	(٪۲۸/۸) ۱۲/۴۴
<i>Chlorella</i> sp.	(٪۱۸/۱) ۲۷/۱۷	(٪۱۶/۶۷) ۸/۴۷	(٪۲۷/۴۱) ۶/۳۷	(٪۲۴/۸۴) ۱۰/۲۷

طور که در نمودارهای ۵ و ۶ دیده می‌شود از لحظه تلقيح، حذف مواد آغاز می‌گردد. افزایش راندمان تصفیه با استفاده از سلول‌های ثبت شده در بررسی های دیگر نیز مورد تایید قرار گرفته است (۱۱، ۱۲ و ۱۵). با این وجود برخی از محققان نیز یکی از معایب استفاده از حامل‌های ثبت شده را محدودیت در نفوذ مواد غذایی دانسته‌اند (۱۵).

در این تحقیق از گویچه‌های ۵ میلی‌متری استفاده شد. در مطالعات دیگر نیز اندازه حدود ۴ تا ۵ میلی‌متر گویچه‌ها بیشترین راندمان در حذف نیتروژن و فسفر را داشته است. مشاهده شده که افزایش سایز گویچه‌ها و به دنبال آن مقدار سلول داخل گویچه‌ها، موجب کاهش راندمان حذف و نشت سلول‌ها به بیرون می‌شود. افزایش سایز گویچه‌ها با کاهش اندازه حفره‌ها همراه است. این امر باعث می‌شود که میزان کمتری از نیتروژن و فسفر به درون گویچه نفوذ کند. زیرا فرآیند حذف نیتروژن و فسفر ابتدا با جذب مواد در سطح گویچه‌ها و سپس نفوذ به درون گویچه‌ها و جذب در سطح سلول‌ها انجام می‌شود (۱۵).

مقایسه نتایج سلول‌های ثبت شده در مقایسه با بررسی سلول‌های آزاد که توسط شاوکی (Shawky) و همکاران در سال ۲۰۱۵ انجام شده است، نشان می‌دهد که میزان حذف فسفر و نیتروژن در حالت ثبت شده به شدت افزایش می‌یابد. دلیل این امر می‌تواند سطح تماس بیشتر با آلاینده‌ها باشد (۴). همچنین دلیل دیگر آن نیز می‌تواند توزیع یکنواخت سلول‌های ریزجلبک در حالت ثبت شده باشد. به طوری که به دلیل سطح تماس یکنواخت، غلظت اولیه مواد مغذی تاثیر کمتری بر کاهش راندمان تصفیه دارد.

همچنین عدم ثبت شده سلول‌ها موجب شسته شدن و حذف آنها در سیستم‌های پیوسته می‌گردد. محققان در سال‌های اخیر برای جلوگیری از این پدیده از تکنیک ثبت با آژینات استفاده می‌نمایند (۱۶-۱۲). در این پژوهش، عملکرد دو گونه ریزجلبک کلرلا و اوووسیستیس به صورت ثبت شده در ماتریکس آژینات کلسیم به منظور حذف نیتروژن-آمونیومی و ارتوسفات از پساب خروجی تصفیه خانه فاضلاب دانشگاه

متداول تصفیه خانه‌های فاضلاب به نحوی تغییر داده شوند که پساب کیفیتی مطابق و یا نزدیک خروجی به آب آشامیدنی سالم را داشته باشد. رسیدن به این هدف، مستلزم افزایش هزینه‌های سالانه تصفیه خانه در پی افزایش مصرف انرژی برای هوادهی در لاغون‌ها، افزایش مصرف مواد شیمیایی برای ترسیب و حذف برخی از آلاینده‌ها و افزایش میزان کلر برای ضدغوفونی کردن پساب خروجی و غیره می‌باشد (۲۷-۲۴). افزایش مصرف هر یک از عوامل یاد شده نه تنها هزینه‌های سنتگینی به همراه دارد، بلکه می‌تواند بر سلامت انسان و شرایط محیط زیست اثرات منفی به جای گذارد. بنابراین سیستم‌های نوین تصفیه فاضلاب باید به نحوی طراحی و اجرا شوند که علاوه بر تأمین کیفیت مطلوب پساب خروجی برای کاربرد در زمینه‌های مختلف، هزینه‌های بهره‌برداری را کاهش داده و اثرات سوء برای انسان و محیط زیست نداشته باشد (۱۵ و ۲۸). یکی از این سیستم‌ها تصفیه با استفاده از سلول‌های آزاد یا ثبت شده ریزجلبک‌ها است که به منظور تصفیه ثالثیه پساب بسیار مورد بررسی قرار گرفته است (۱، ۱۹-۳ و ۲۳-۳۴).

در فرآیند تیمار پساب‌ها با ریزجلبک‌ها مشکل اصلی شناسایی شده رسوب دادن و جمع آوری ریزجلبک‌ها پس از تصفیه پساب است. ثبت ریزجلبک یکی از راه حل‌های مشکل رسوب ریزجلبک‌ها است. در این تحقیق نیز از روش ثبت در آژینات بهره گرفته شد. کاراگینان، کیتوزان و آژینات پلیمرهای معمولی هستند که برای ثبت ریزجلبک استفاده می‌شوند. گویچه‌های حاوی ریزجلبک به راحتی پس از استفاده قابلیت رسوب دارند (۲۹).

تأثیر سلول‌های ثبت شده سینی دسمس اوبلیکوس و کلرلا ولگاریس توسط روز-مارین (Ruiz-Marín) و همکاران در سال ۲۰۱۰ مورد بررسی قرار گرفته است. در هر دو گونه رشد فوری سلول‌ها پس از افزودن به پساب مصنوعی و پساب شهری مشاهده گردید. در واقع فاز سکون مشاهده شده در سلول‌های آزاد، در سلول‌های ثبت شده دیده نمی‌شود (۳). این نتایج با یافته‌های این تحقیق هم خوانی دارد. همان

منفی مانند شدت نفوذ نور باشد. این نتایج با تحقیق انجام شده توسط ژانگ (Zhang) و همکاران در سال ۲۰۱۲ که بر روی سلول‌های ثبت شده کلرلا انجام شده در یک راستا می‌باشد (۳۳). در تیمار با جلبک کلرلا پس از گذشت ۳ روز کل نیتروژن آمونیومی محیط حذف شد. این امر نشان دهنده توانایی بالاتر جلبک کلرلا در حذف نیتروژن آمونیومی نسبت به گونه اووسیستیس باشد. راندمان ۱۰۰ درصدی حذف نیتروژن آمونیومی در این تحقیق قابل مقایسه با نتایج شاکر (Shaker) و همکاران در سال ۲۰۱۵ می‌باشد. به طوری که حداکثر میزان حذف در آن تحقیق ۷۷٪ در مدت ۱۰ اعلام گردید (۱۲). اما نتایج جایسودا (Jaysudha) و همکاران در سال ۲۰۱۳ و عبدالحمید (Abdel-Hamed) و همکاران در سال ۲۰۰۷ با راندمان حذف ۹۸/۵ درصد به یافته‌های این پژوهش بسیار نزدیک است (۱۱ و ۱۵).

بیشترین میزان حذف نیتروژن آمونیومی از محیط در مورد ریز جلبک اووسیستیس در فاصله بین روزهای دهم تا چهاردهم از تیمار بود. دلیل آن این است که در این زمان سلول‌ها به حداکثر رشد خود رسیده‌اند.

این نتایج قابل مقایسه با نتایج عبدالرئوف (Abdel-Rauof) و همکاران در سال ۲۰۱۲، کاپاراپو (Kaparapu) و همکاران در سال ۲۰۱۶، لوپیز (Lopes) و همکاران در سال ۲۰۰۸ و ژانگ (Zhang) و همکاران در سال ۲۰۱۲ است. این محققان نیز اثبات نمودند که بیشترین میزان حذف نیتروژن آمونیومی در زمان حداکثر رشد سلولی به دست می‌آید (۳۰-۳۳). همچنین حذف ۸۶ درصد و ۸۱ درصدی فسفر توسط کلرلا و سسینی در دسمس و همچنین ۱۰۰٪ و ۹۸/۴٪ نیتروژن توسط این دو گونه مشاهده شده است (۳۱).

ریزجلبک اووسیستیس در مقایسه با گونه کلرلا، بالاترین بازده حذف مواد مغذی ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) و ریز جلبک کلرلا بالاترین بازده حذف مواد مغذی ( $\text{NO}_3^-$ - $\text{NH}_4^+$ ) را دارد. بنابراین می‌توان فتوبیوراکتورها را به نحوی طراحی نمود که از کلرلا و اووسیستیس در حذف نیتروژن-نیتراتی و ارتوفسفات استفاده نمود و میزان ترکیبات نیتروژنی و فسفر را در پساب خروجی

صنعتی مالک اشتراحت بررسی شد. نتایج نشان داد که در مورد حذف ارتوفسفات بازده کلی حذف ریز جلبک اووسیستیس ۶۹ درصد است. این میزان در مقایسه با ریز جلبک کلرلا در یک دوره ۱۴ روزه که بازده کلی حذف ۶۲/۲۷ درصد را داشت، بالاتر بود. بررسی محققان دیگر نشان از راندمان‌های بالاتر حذف ارتوفسفات در مدت زمان کمتر دارد. شاکر (Shaker) و همکاران در سال ۲۰۱۵ راندمان ۹۹ درصدی را با استفاده از ریزجلبک ثبت شده کلرلا در مدت ۱۰ روز به دست آورده‌اند (۱۲).

همچنین جایسودا (Jaysudha) و همکاران در سال ۲۰۱۳ به راندمان ۹۹/۳۹ درصد حذف فسفات در مدت ۸ روز دست یافتند (۱۱). این نتیجه نشان می‌دهد که ریز جلبک اووسیستیس توانایی مناسبی در حذف ارتوفسفات از پساب نسبت به کلرلا دارد. همچنین بیشترین بازده حذف در مورد اووسیستیس بین روزهای دهم و چهاردهم اتفاق افتاد که برابر با ۲۸/۸ بود.

در مورد کلرلا بیشترین بازده حذف بین روزهای هفتم تا دهم اتفاق افتاد که مقدار ۲۴/۸۴ گزارش شد. افزایش میزان ارتوفسفات در محیط از روز دهم به بعد مربوط به آزاد شدن آن از صفحات آلزینات می‌باشد. آلزینات پلی ساکاریدی است که از جلبک‌های قهوه‌ای استخراج شده و در ساختار آن دو ترکیب آلفا-آل-گلورونیک اسید و بتا-دی-مانورونیک اسید وجود دارد. در ساختار هر دو ترکیب یون سدیم وجود دارد. حضور آلزینات در محیط حاوی فسفات کلسیم، موجب می‌گردد که یون کلسیم در جای یون سدیم در ساختار آلزینات قرار گرفته و بر مقاومت صفحات ثبتی بیفزاید و با انحلال رسوبات، ارتوفسفات را افزایش دهد (۳۴).

همان طور که در نتایج آورده شده است از روز دهم به بعد سرعت حذف مواد کاهش یافت. دلیل آن می‌تواند وجود چندین فاکتور منفی مانند کمبود نور و یا نفوذ کمتر مواد غذایی باشد. در دوره زمانی روز پنجم تا دهم بیشترین شبیه حذف مواد وجود دارد. علت این امر می‌تواند تعادل بین عوامل مثبت مانند دوره رشد لگاریتمی سلول و تکثیر داخل ژل و عوامل

مرحله سوم حذف نیتروژن و فسفر، حذف با استفاده از گونه کلرلا ثبت شده که در کمتر از سه روز حذف ۱۰۰ درصدی نیتروژن را داشت. این زمان کوتاهتر از روش استخر جلبک با نرخ بالا (HRAP) است که ۶ روز زمان نیاز دارد. اما در مقایسه با روش‌های شیمیابی که ۱۲ ساعت زمان نیاز دارند، طولانی تر بود (۲۴). باید توجه داشت که عوامل مختلفی بر سرعت و راندمان تصفیه توسط ریزجلبک تاثیر گذارند. از این میان می‌توان به شدت نور، دوره روشنایی، دما، pH و غلظت اولیه مواد مغذی، اکسیژن محلول و ... اشاره نمود. همچنین مقدار اولیه ریزجلبک، نحوه ثبت، درصد آثربنات در ژل و حجم ژل مصرفی در عملکرد ریزجلبک تأثیرگذار می‌باشد. بنابراین یافتن شرایط بهینه برای افزایش بازده حذف آلاینده‌ها و نیز تولید بیشتر توده زیستی مستلزم انجام تحقیقات بیشتر می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌گردد که در پژوهش‌های آینده علاوه بر بررسی موارد یاد شده، تحقیقاتی در زمینه حذف فلزات سنگین، کاهش COD و BOD، حذف و کاهش عوامل بیماری‌زا و ... صورت گیرد تا با دست یابی به نتایج کامل تر و تعیین شرایط بهینه، احداث سیستم‌های نوین تصفیه پساب شهری و صنعتی در آینده‌ای نزدیک امکان‌پذیر گردد.

### نتیجه گیری

مطالعه حاضر ثابت می‌کند که استفاده از سلول‌های ثبت شده ریزجلبک برای تصفیه پساب یک روش قابل اطمینان برای تصفیه ثالثیه پساب‌ها است. با این حال تحقیقات بیشتری قبل از اجراء آن در فاز صنعتی لازم و ضروری است. همچنین گونه کلرلا کارایی بالایی در حذف نیتروژن آمونیومی دارد و گونه ایوسیستیس کارایی بالایی در حذف ارتوفسفات دارد. بنابراین در صورت استفاده همزمان (کشت مخلوط) از هر دو گونه می‌توان با راندمان بالای ۹۰ درصد به حذف نیتروژن آمونیومی و ارتوفسفات رسید. همچنین میکروجلبک‌های کشت شده در این فرایند امکان تولید بیودیزل را دارند. انجام همزمان این دو فرآیند موجب کاهش میزان انرژی و هزینه تولید بیودیزل می‌گردد.

کاهش داد. این نتایج با بررسی‌های سریرام (Sriram) و همکاران در سال ۲۰۱۲ در یک راستا هستند (۲۹).

در مطالعه رویزمارین (Ruiz-Marín) و همکاران در سال ۲۰۱۰ نیز فعالیت کلرلا بیشتر از سینی دسمس بود که نشان دهنده آن است که گونه کلرلا و لگاریس توانایی بالاتری نسبت به دیگر ریزجلبک‌ها در حذف نیتروژن و فسفر از پساب دارد (۳۰). در این تحقیق در پایان دوره رشد و تصفیه میزان کلروفیل سلول اندازه گیری شد. نتایج نشان از افزایش میزان کلروفیل نسبت به شروع رشد داشت. آنالیز کلروفیل A در پایان تیمار پساب نشان دهنده آن است که سلول‌های ریزجلبک همچنان در پایان ۱۴ روز در درون ژل زنده هستند و میزان کلروفیل افزایش داشته است. دلایل این امر می‌تواند: ۱- رشد سلولی و تکثیر ۲- کاهش نور تابشی در اثر ثبت و خود سایه اندازی و اثر ژل که باعث افزایش تولید پیگمان برای جذب بیشتر نور می‌شود و ۳- عمل ثبت باعث افزایش میزان آنابولیسم سلول و فعالیت فیزیکولوژیکی شود که در نهایت موجب افزایش راندمان حذف مواد غیرآلی می‌گردد (۳۳).

در تحقیق دیگر که توسط کومار (Kumar) و همکاران در سال ۲۰۱۲ صورت گرفت میزان کلروفیل در سلول‌های ثبت شده و آزاد با هم مقایسه شد. یافته‌ها نشان داد که میزان کلروفیل از روز نهم در سلول‌های ثبت شده افزایش می‌یابد. اما در سلول‌های آزاد ثابت است و در نهایت پس از گذشت ۱۵ روز به ۴/۴ میکروگرم می‌رسد (۲۸). در انتهای دوره رشد بر روی ژل، کلنی‌های کوچکی از سلول‌های ریزجلبک و یک لایه رنگ سبز ضخیم تشکیل شده بود. این یافته معمولاً در تحقیقات دیگر نیز مشاهده شده که سلول‌های کلرلا پس از خروج از ژل، کلنی‌های کوچکی از مجموع ۸ تا ۳۰ سلول تشکیل می‌دهند (۲۸).

با توجه به استانداردهای آب و پساب میزان فسفر و نیتروژن کل پساب شهری جهت تخلیه باید کمتر از ۲ ppm برای فسفر و ۱۵ ppm برای نیتروژن باشد. در این تحقیق با استفاده از ریزجلبک کلرلا و لگاریس به هر دو استاندارد مورد نظر رسیده شد. در مقایسه نتایج این تحقیق با سایر روش‌های تصفیه

مالک اشتر به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش

تشکر و قدردانی

کمال امتنان را دارد.

نویسندهای این مقاله از همکاران ارجمند در دانشگاه صنعتی

## References

1. Jena J, Ray S, Pandey S, Das T. Effect of COD/N ratio on simultaneous removal of nutrients and COD from synthetic high strength waste water under anoxic conditions. *J Sci Ind Res.* 2013; 72: 127-131.
2. Morais MG, Silva CK, Henrard AA, Costa JAV. Carbon dioxide mitigation by microalgae in a vertical tubular reactor with recycling of the culture medium. *Afr J Mic Res.* 2015; 9(33): 1935-1940.
3. Ruiz-Marin A, Mendoza-Espinosa LG, Stephenson T. Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. *Bioresource Technol.* 2010; 101: 58-64.
4. Shawky HA, Abdel Gwad AM, Bayomi AM, Abdel Mottale MSA. Removal of ammonia and phosphate from water resources using free and immobilized microalgae. *Int J Environ.* 2015; 04 (03): 193-203.
5. Ebrahimi S, Kynejad MA. Environmental Engineering. 2003. Sahand University of Technology Press, Tabriz. [In Persian]
6. Lopes LDF, Taidi B, Pareau D. Nitrogen and phosphate removal from wastewater with a mixed microalgae and bacteria culture. *Biotech Rep.* 2016; 11: 18-26.
7. Abdel-Hameed MS, Abdel Hameed, Ebrahim OH. Biotechnological potential uses of immobilized algae. *Int J Agric Bio.* 2007; 9(1): 183-192.
8. Hernandez JP, de-Bashan LE, Bashan Y. Starvation enhances phosphorus removal from wastewater by the microalgae *Chlorella* spp. Coimmobilized with *Azospirillum brasiliense*. *Enzyme Microbial Tech.* 2006; 38: 190-198.
9. Selimoglu SM, Elibol M. Alginate as an immobilization material for MAb production via encapsulated hybridoma cells. *Cr Rev Biotech.* 2010; 30(2): 145-159.
10. Munoz R, Alvarez T, Munoz A, Terrazas E, Guiyesse B, Mattiasson B. Sequential removal of heavy metals ions and organic pollutants using an algal-bacterial consortium. *Chemosphere.* 2006; 63: 903-911.
11. Jaysudha S, Sampathkumar P. Nutrient removal from tannery effluent by free and immobilized cells of marine microalgae *Chlorella salina*. *Int J Environ Biol.* 2014; 4(1): 21-26.
12. Shaker S, Nemati A, Montazeri-Najafabady N, Mobasher MA, Morowvat MH, Ghasemi Y. Treating urban wastewater: Nutrient removal by using immobilized green algae in batch cultures. *Int J Phytoreme.* 2015; 17(2): 1177-1182.
13. Trejo A, de-Bashana LE, Hartmann A, Hernandez JP, Rothbauer M, Schmid M, Bashan Y. Recycling waste debris of immobilized microalgae and plant growth-promoting bacteria from

- wastewater treatment as a resource to improve fertility of eroded desert soil. Environ Exp Bot. 2012; 75: 65–73.
14. Vanessa E, Suarez B, Susan S, Sanchez V, Yeimy Y, PeraltaRuiz , Angel D, Delgado O, Andrés F, Solanod B, ArdilaAlvarez AM. Passive microalgae immobilization for wastewater treatment: study of residual glycerol consumption. Chem Eng Trans. 2016; 47: 463-468.
15. Abdel Hameed MS. Effect of algal density in bead, bead size and bead concentrations on wastewater nutrient removal. Afr J Biotech. 2007; 6(10): 1185-1191.
16. Mujtaba G, Kisay L. Treatment of real wastewater using co-culture of immobilized *Chlorella vulgaris* and suspended activated sludge. Water Res. 2017; 120: 174-184.
17. Mujtaba G, Rizwana M, Kisay L. Removal of nutrients and COD from wastewater using symbiotic co-culture of bacterium *Pseudomonas putida* and immobilized microalga *Chlorella vulgaris*. J Ind Eng Chem. 2017; 49: 145-151.
18. Sara P, Bermudez C, Gibran S, Nava A, Chandra R, Perez JSG, Angulo JRC, Markou G, Muylaert K, Rittman B. Nutrients utilization and contaminants removal. A review of two approaches of algae and cyanobacteria in wastewater. Algal Res. 2017; 24: 438-449.
19. Amavizca E, Bashan Y, Ryu C, Farag MA, Bebout BM, Bashan LE. Enhanced performance of the microalga *Chlorella sorokiniana* remotely induced by the plant growth-promoting bacteria *Azospirillum brasiliense* and *Bacillus pumilus*. Sci Rep. 2017; 7: 1-11.
20. Morowvat MH. PCR amplification of 18S rRNA, Single cell protein production and fatty acid evaluation of some naturally isolated microalgae. Pharm. D. thesis, 2008. 91.
21. De Borba BM, Jack RF, Rohrer JS, Wirt J, Wang D. Simultaneous determination of total nitrogen and total phosphorus in environmental waters using alkaline persulfate digestion and ion chromatography. J Chromatogr A. 2014; 21: 131-137.
22. Kubalová I, Ikeda Y. Chlorophyll measurement as a quantitative method for the assessment of cytokinin-Induced green foci formation in tissue culture. J Plant Growth Regul. 2017; 36(2): 516-521.
23. Kanherkar SV, Late AM, Nalawade PM, Bhosaleanda BJ, Dhapate SA. Study of the efficiency of immobilized algal technology for wastewater treatment. J Environ Sci Eng. 2012; 54(1): 121-127.
24. Shi J, Podola B, Melkonian M. Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae immobilized on twin layers: an experimental study. J Appl Phycol 2007; 19(5): 417-423.
25. Moreira S M, Moriera-Santos M, Guilhermino L, Ribeiro R. Immobilization of the marine microalga *Phaeodactylum tricornutum* in alginate for in situ experiments: Bead stability and suitability. Enzyme Microb Tech. 2006; 38: 135-141.
26. Moreno-Garrido I, Campana O, Lubia'n LM, Blasco J. Calcium alginate immobilized marine microalgae: Experiments on growth and short-term heavy metal accumulation. Mar Pollut Bull. 2005; 51: 823-929.

27. Moreno-Garrido I. Microalgae immobilization: Current techniques and uses. *Bioresource Tech.* 2008; 99(10): 3949-3964.
28. Kumar S, Saramma AV. Nitrate and Phosphate uptake by immobilized cells of *Gloeocapsa gelatinosa*, *J Mar Biol Ass India*. 2012; 54(1): 119-122.
29. Sriram S, Seenivasan R. Microalgae cultivation in wastewater for nutrient removal. *J Algal Biomass Utln.* 2012; 3(2): 9-13.
30. Abdel-Raouf N, Al-Homaidan AA, Ibraheem IBM. Microalgae and wastewater treatment. *Saudi J Biol Sci.* 2012; 19(3): 257-275.
31. Kaparapu J, Rao Geddad MN. Applications of immobilized algae. *J Algal Biomass Utln.* 2016; 7(2): 122-128.
32. Lopes EJ, Gimenes CH, Lacerda L MC. Effect of light cycles (night/day) on CO<sub>2</sub> fixation and biomass production by microalgae in photobioreactors. *Chem Eng Process.* 2008; 5572: 46-61.
33. Zhang E, Wang B, Ning Sh, Sun H, Yang B, Jin M, Hou L. Ammonia-nitrogen and orthophosphate removal by immobilized *Chlorella* sp. isolated from municipal wastewater for potential use in tertiary treatment. *Afr J Biotech.* 2012; 11(24): 6529-6534.
34. Zamani N, Noushsdi M, Amin, SA, Ghasemi Y, Niyazi A. Nitrogen-nitrate and orthophosphate removal from wastewater using microalgae biotechnology. Second international symposium of environmental engineering, Tehran. 2009. [In Persian]

## Removal of ammonium nitrogen and orthophosphate from urban wastewater by stabilized microalgae cells

Daryush Arabian<sup>1</sup>, Peyvand Amiri<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Assistant Professor, Malek Ashtar University of Technology, University Institute of Applied science, Esfahan, Iran.

<sup>2</sup>M.Sc., Malek Ashtar University of Technology, University Institute of Applied Science, Esfahan, Iran.

### Abstract

**Background & Objectives:** Provision of useful strategies and targeted plans in order to reduce the consumption of available water resources and also create good quality wastewater is necessary due to current lack of water resources. This study was carried out to investigate the removal of ammonium nitrogen and orthophosphate from urban wastewater using two microalgae strains.

**Material & Methods:** For this purpose cultured cells of *Chlorella* and *Oocystis* were mixed up with 4% sodium alginate solution. The resulting mixture was added to a solution of calcium chloride in order to form alginate globules containing microalgae cells. To measure cell growth, Neubauer Chamber counting method was used. The amount of nitrogen and orthophosphate removal was measured by light absorption method using Nessler's and Armstrong's reagents, respectively.

**Results:** *Oocystis* removed about 65.2 % of the ammonium nitrogen following 14 days of treatment. Moreover, the overall efficiency of the orthophosphate removal was 69 %. In case of *Chlorella*, the rate of ammonium nitrogen removal was 74.3 % following 4 days of treatment and reached 100% following 7 days of treatment. The overall orthophosphate removal efficiency was 62.27 %.

**Conclusion:** The results indicated that *Chlorella* has the convenient ability to remove nitrogen and phosphorus from wastewater in designed conditions.

**Keywords:** *Chlorella*, *Oocystis*, Waste water, Ammonium nitrogen, Orthophosphate.

---

Correspondence to: Drayush Arrabian

Tel: +98 3136292357

E-mail: [darabian@mut.ac.ir](mailto:darabian@mut.ac.ir)

Journal of Microbial World 2018, 10(4): 333-345.