Archive of SID

استفاده از ریزجلبک‌ها در حذف نیتروژن- نیتراتی و ارتوفسفات از فاضلاب شهری

مسعود نوشادی*[۱]، نرگس زمانی[۲]، سیف‌الله امین[۳] و یونس قاسمی[۴]

[۱] استادیار بخش مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

[۲] کارشناس ارشد مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

[۳] استاد بخش مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

[۴] دانشیار گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

چکیده

برای جلوگیری از آلودگی آب و محیط زیست باید راهکارهایی جهت تصفیه و استفادهٔ مجدد از فاضلاب‌ها اتخاذ گردد. بیوتکنولوژی زیست محیطی سعی در ارائه و توسعهٔ روش‌های نوین تصفیه آب و فاضلاب دارد و در این راستا از موجودات تک سلولی مانند ریزجلبک‌ها استفاده می‌نماید. از آنجائی که حذف هر آلاینده از فاضلاب متناسب با اهمیت بهداشتی و زیست‌محیطی آن است، حذف عناصر مغذی با پیدایش پدیده یوتریفیکاسیون در منابع آبی اهمیت خاص پیدا کرده است. هدف از این تحقیق، بررسی راندمان حذف نیتروژن- نیتراتی و ارتوفسفات از فاضلاب شهری توسط گونه‌های مختلف ریزجلبک می‌باشد. گونه‌های مختلف ریزجلبک در محلول آلژینات سدیم تثبیت شده و به ارلن‌های حاوی ۵۰۰ cc فاضلاب خروجی تصفیه‌خانه فاضلاب شیراز اضافه گردید. طی مدت ۱۲ روز، میزان NO_3^--N، PO_4^{3-}-P و pH اندازه‌گیری شد. نتایج نشان می‌دهد که ریزجلبک کلامیدوموناس با حذف ۸۲/۴ درصد از نیتروژن- نیتراتی و ۷۱/۹ درصد از ارتوفسفات از فاضلاب، در مقایسه با سایر گونه‌ها بالاترین راندمان حذف NO_3^--N و PO_4^{3-}-P را دارد. همچنین، ریزجلبک کلرلا ولگاریس بالاترین ظرفیت اکسیژن‌زایی را دارد. با رشد و غنی شدن ریزجلبک‌ها و افزایش پروتئین در آن‌ها، می‌توان از تودهٔ زیستی تولیدی در صنعت، کشاورزی، مواد دارویی و غذایی استفاده نمود.

واژگان کلیدی: نیتروژن- نیتراتی، ارتوفسفات، زیست فناوری، تثبیت ریزجلبک.

۱- مقدمه

کمیت و رشد جمعیت و ارتقای سطح کیفی و بهداشتی زندگی بشری باعث افزایش مصرف آب در بسیاری از کشورها از جمله ایران شده که تأمین این نیاز از ذخایر سطحی و زیرزمینی صورت می‌گیرد. اما کاهش نزولات آسمانی در چند سال اخیر موجب کاهش بیش از اندازهٔ این منابع در بسیاری از نقاط و وقوع خشکسالی شده است. پیش‌بینی‌ها گسترش بیشتر این مسئله را نشان می‌دهد. لذا استفاده از سایر منابع آبی مانند فاضلاب‌ها گزینه‌ای برای رفع بسیاری از نیازها و حتی تأمین آب شرب خواهد بود. به منظور بهبود کیفیت فاضلاب و به حداقل رساندن آلاینده‌ها، بایستی سیستم‌های تصفیه فاضلاب به نحوی طراحی و اجرا شوند که علاوه بر تأمین کیفیت مطلوب فاضلاب خروجی، هزینه‌های بهره‌برداری را کاهش داده و اثرات سوء برای انسان و محیط زیست نداشته باشد. تحقیقات دهه‌های اخیر پژوهشگران بر استفاده از ریزجلبک‌ها[1] در تصفیهٔ فاضلاب نشان می‌دهد که این موجودات تک سلولی می‌توانند انتخابی مناسب در رسیدن به این هدف باشند. تقاضای بیولوژیکی اکسیژن (BOD) فاضلاب شهری را می‌توان با استفاده از سیستم فتوسنتزی ریزجلبک کاهش داد[۱ و۲]. ریزجلبک برای ساخت پروتئین، اسیدهای نوکلئیک و فسفولیپیدها مواد مغذی را از فاضلاب جذب نموده [۳ و۴] و قادر به جذب فلزات سنگین و آلاینده‌های سمی از فاضلاب هستند [۵، ۶، ۷ و ۸]. ریزجلبک‌ها فعالیت عوامل بیماری‌زا را بر اثر افزایش pH و غلظت اکسیژن محلول در فاضلاب خروجی کاهش می‌دهند [۹ و ۱۰]. مقادیر بالای پروتئین و رشد سریع ریزجلبک و نیز عدم احتمال ایجاد بیماری توسط این پروتئین تک یاخته[2] نشان می‌دهد که می‌توان از ریزجلبک‌ها به عنوان منابع غذایی مناسب برای انسان و دام استفاده نمود [۱۱]. در نتیجه طراحی سیستم تصفیه فاضلاب با محوریت کاربرد ریزجلبک‌ها این امکان را می‌دهد که سیستم فتوسنتزیک آن را جایگزین سیستم هوادهی مکانیکی کرده و انرژی مصرفی و هزینه‌های مربوط به هوادهی را کاهش داد. همچنین از سیستم جذب مواد به داخل توده برای حذف آلاینده‌ها استفاده کرد.

[1] Microalgae

[2] Single Cell Protein

www.SID.ir

* نویسنده مسئول

دریافت ۸۹/۶/۱۰ پذیرش ۸۹/۱۱/۲۵

Archive of SID

از طرفی به جای تولید لجن فعالی که تنها به عنوان کود در کشاورزی به کار می‌رود، تودهٔ زیستی می‌تواند به عنوان منبع غذایی برای انسان، دام و آبزیان مصرف شود [۹].

از آنجا که استفاده از ریزجلبک به صورت آزاد، مشکل برداشت و جداسازی توده زیستی را به همراه خواهد داشت، روش‌های مختلفی برای تثبیت[1] (قراردهی ریزجلبک‌ها در یک ماده نگهدارنده و محافظ) ارائه 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 [۱۲ - ۱۴]. تم و وانگ[2] [۱۳] حذف نیتروژن- آمونیمی و ارتوفسفات از فاضلاب را در سیستم حاوی سلول‌های ریزجلبک آزاد و تثبیت شده مقایسه کردند. راندمان حذف آمونیم و ارتوفسفات در سیستم تثبیت شده، ۷۸ و ۹۴ درصد و در سیستم با سلول آزاد ۴۰ و ۵۹ درصد حاصل شد.

فیرو و همکاران[3] [۱۵] حذف نیتروژن- نیتراتی و ارتوفسفات را توسط ریزجلبک سندسموس[4] تثبیت شده و آزاد بررسی کردند. سلول‌های تثبیت شده ۷۰ و ۹۴ درصد از نیترات و ارتوفسفات را طی ۱۲ ساعت از محیط حذف نموده در حالی که سلول‌های آزاد، ۲۰ درصد نیترات و ۳۰ درصد ارتوفسفات را در مدت ۳۶ ساعت حذف کرده است. نتایج تحقیقات تاکور و کومار[5] [۱۶] بر ریزجلبک دونالیلا سالینا[6] در حذف نیترات، آمونیم و ارتوفسفات نیز نشان داد که در شرایط تثبیت ریزجلبک، راندمان بهتری نسبت به حالت سلول آزاد حاصل شده است. همچنین لائو و همکاران[7] [۱۷]، از ریزجلبک کلرلا ولگاریس[8] تثبیت شده در کارآژینان و آلژینات برای تصفیهٔ فاضلاب استفاده کردند. نتایج نشان داد که ریزجلبک تثبیت شده به ترتیب ۹۵ و ۹۹ درصد آمونیم و ارتوفسفات را طی ۳ روز حذف کرده در حالی که ریزجلبک آزاد در حدود ۵۰ درصد این دو ترکیب را در مدت زمان مشابه حذف کرده است. Pérez-Martínez و همکاران [۱۸] هشت گونه ریزجلبک دریایی را در آلژینات تثبیت کرده و راندمان حذف نیتروژن و فسفر از فاضلاب را بررسی نمودند.

[1] Immobilization
[2] Tam and Wong
[3] Fierro et al.
[4] Scenedesmus sp.
[5] Thakur and Kumar
[6] Dunaliella salina
[7] Lau et al.
[8] Chlorella vulgaris

www.SID.ir

نتایج نشان داد که گونهٔ کلروسارکینوپسیس[9] بالاترین راندمان حذف مواد مغذی را دارد.

در تثبیت میکروارگانیسم‌ها، بیشتر از آگار[10]، کارآژنیان[11] و یا آلژینات[12] استفاده می‌شود. آلژینات به دلیل 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) به صورت گسترده‌ای برای به دام‌اندازی ریزجلبک‌ها به کار می‌رود [۱۹- ۲۱].

هدف از این تحقیق، بررسی راندمان حذف نیتروژن- نیتراتی و ارتوفسفات از فاضلاب شهری توسط گونه‌های مختلف ریزجلبک و تعیین گونه‌ای با بالاترین راندمان حذف می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

گونه‌های مختلف ریزجلبک که توسط روش‌های مورفولوژیک شناسایی و با استفاده از PCR[13] و تکثیر و توالی‌یابی مارکر مولکولی 18S rRNA تائید نهایی شده بودند[14]، در محیط کشت BG-11 واکشت[15] داده شدند. نام گونه‌های استفاده شده در جدول (۱) ارائه شده است.

جدول ۱- گونه‌های ریزجلبک واگشت داده شده

کد شناسایی	ریزجلبک
MCCS 033	Oocystis sp.
MCCS 011	Chlorella vulgaris
MCCS 013	Chlorella vulgaris
MCCS 014	Chlorella vulgaris
MCCS 015	Chlorella vulgaris
MCCS 034	Synechococcus sp.
MCCS 026	Chlamydomonas sp.
MCCS 004	Fischerella ambigua
MCCS 006	Chroococcus dispersus
MCCS 018	Scenedesmus rubescens

[9] Chlorosarcinopsis sp.
[10] Agar
[11] Carageenan
[12] Alginate
[13] Polymeras Chain Reaction
[14] شناسایی و نگهداری گونه‌های ریزجلبک توسط گروه بیوتکنولوژی دارویی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شیراز (MCCS) انجام و کدگذاری شده‌اند.
[15] Subculture، کشت دادن مجدد ریزجلبک با افزودن مقداری از ریزجلبک رشد یافته در محیط کشت جدید

Archive of SID

برای شمارش تعداد سلول از لام نئوبار هموسیتومتر[1] استفاده شد. تثبیت ریزجلبک در آلژینات سدیم[2] صورت گرفت [۲۲]. به ازای هر گونه، ۶۰cc محلول آلژینات سدیم ۴٪، محلول کلریدکلسیم ۲٪ و محلول کلریدسدیم (سالین) ۰/۸۵٪ تهیه و به طور جداگانه در اتوکلاو استریل شدند. 7×10^{6} cell/ml از هر گونه ریزجلبک در فالکون‌های استریل ریخته، در دستگاه سانتریفیوژ در دمای $4^{\circ}C$ و ۴۵۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۵ دقیقه قرار گرفته، سلول‌ها از محیط کشت تفکیک شده و محیط BG-11 تخلیه شد. مقداری محلول سالین به منظور شستشوی سلول‌ها به فالکون اضافه نموده و سانتریفیوژ سلول‌ها دوباره انجام شد. این مرحله دوبار تکرار شد. پس از تخلیه سالین در مرحله دوم، مجدداً ۱۵cc از آن را به سلول‌ها اضافه کرده، و به ارلن حاوی محلول آلژینات اضافه نموده و روی همزن مغناطیسی[3] به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده تا سلول‌ها به طور یکنواخت در محلول آلژینات پراکنده شوند. برای هر تکرار از هر گونه، ۲۰cc از محلول آلژینات-ریزجلبک را به مقداری کلریدکلسیم در پتری‌دیش‌های پیرکس استریل اضافه نموده تا صفحات تثبیت شکل گرفته و سفت شوند. صفحات تثبیت را با سالین شسته و به ارلن‌های حاوی ۵۰۰cc فاضلاب خروجی مرحلهٔ دوم تصفیه‌خانهٔ فاضلاب شیراز که قبلا در اتوکلاو استریل شده، اضافه نموده و در دمای $20^{\circ}C$ و شدت نور ۱۰۰۰ لوکس به مدت ۱۲ روز قرار گرفت.

آزمایشات در سه تکرار انجام شد. در روزهای اول، چهارم، هشتم و دوازدهم نمونه‌برداری صورت گرفته و بر اساس روش‌های استاندارد اندازه‌گیری آب و فاضلاب[4]، میزان نیتروژن- نیتراتی به روش رنگ‌سنجی[5] در طول موج ۲۲۰ نانومتر و ارتوفسفات به روش مورفی- رایلی[6] در طول موج ۸۸۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر مدل ژنوی[7] و pH با دستگاه pH متر مدل مترأهم[8] اندازه‌گیری شد [۲۳].

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی راندمان حذف نیتروژن- نیتراتی توسط گونه‌های مختلف ریزجلبک

درصد تغییرات مقادیر اندازه‌گیری‌شدهٔ نیتروژن- نیتراتی نمونه‌ها در بازه‌های چهار روزه و در کل دورهٔ ۱۲ روز آزمایش در جدول (۲) ارائه (اعداد مثبت بیانگر راندمان حذف و اعداد منفی بیانگر راندمان افزایش NO_3^--N می باشد) و روند تغییرات مقادیر NO_3^--N در شکل (۱) نشان داده شده است. متوسط مقدار اولیهٔ نیتروژن- نیتراتی در تیمارها ۱/۶۴ mg/L بوده که طی ۱۲ روز در اکثر تیمارهای حاوی ریزجلبک کاهش یافته که در تیمار ریزجلبک کلامیدوموناس به کمترین مقدار یعنی ۰/۲۹ mg/L رسیده است. اما در تیمار شاهد[9] و تیمار فاضلاب حاوی صفحهٔ آلژینات[10]، نیتروژن- نیتراتی افزایش یافته است.

جدول ۲- درصد تغییرات مقادیر نیتروژن- نیتراتی در دوره‌های ۴ روزه و در کل دوره در تیمارهای مختلف در فاضلاب تصفیه‌خانه فاضلاب شیراز

تیمار	درصد تغییرات NO_3^--N در بازه زمانی			
	۱-۴	۴-۸	۸-۱۲	۱-۱۲
Blank	-۷/۱۹	۰/۰۵	-۱۳/۸۴	-۲۱/۹۷
Alginate	-۱۷/۱۰	-۰/۶۱	-۲۱/۹۰	-۴۳/۶۳
F. ambigua	-۲۴/۵۵	-۹/۵۸	۶۱/۵۹	۴۷/۵۷
Synechococcus	-۱۹/۴۰	-۱/۲۵	-۹/۷۸	-۳۲/۷۲
Oocystis	-۱۷/۱۰	-۷/۳۷	۶۱/۲۲	۵۱/۲۴
C. vulgaris 011	-۳۲/۳۱	-۶/۵۸	۷۳/۱۰	۶۲/۰۷
C. vulgaris 013	-۲۹/۷۷	-۷/۹۵	۵۶/۱۱	۳۸/۵۲
C. vulgaris 014	-۴۶/۱۳	-۹/۲۲	۶۱/۴۴	۳۸/۴۶
C. vulgaris 015	-۳۸/۰۷	-۴/۸۰	۸۳/۴۷	۷۶/۰۸
S. rubescens	-۲۱/۷۸	-۱/۶۰	۶۵/۵۹	۵۷/۴۲
Chlamydomonas	-۲۲/۷۱	-۲/۳۴	۸۵/۹۷	۸۲/۳۸
C. dispersus	-۲۸/۰۱	-۱۲/۱۴	۵۸/۴۹	۴۰/۴۲

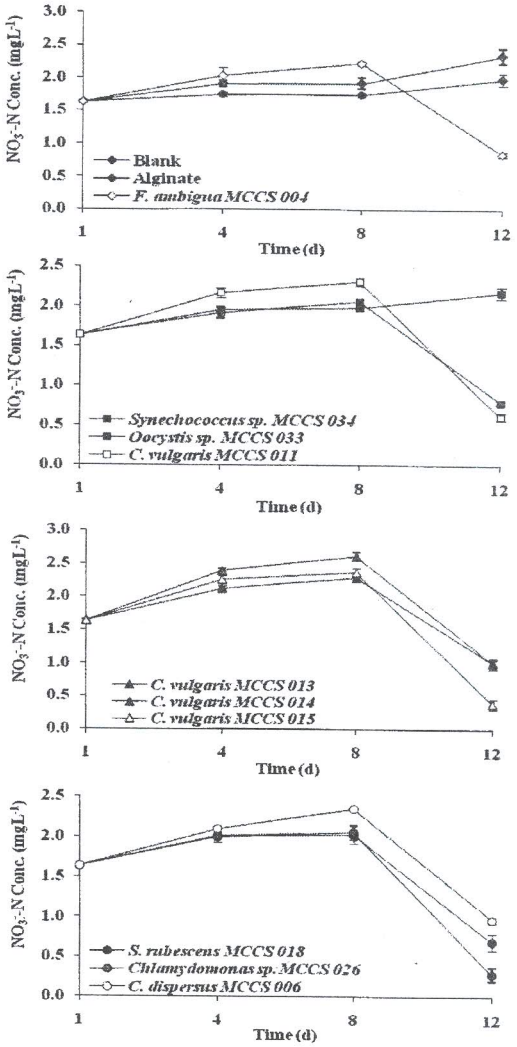
علت افزایش نیتروژن- نیتراتی تا روز هشتم در اکثر تیمارهای حاوی ریزجلبک تثبیت شده و نیز تا روز دوازدهم در تیمارهای شاهد و آلژینات، فرآیند نیتریفیکاسیون می‌باشد. ریزجلبک همزمان با مصرف منابع نیتروژنی، طی فتوسنتز خود، اکسیژن مورد نیاز باکتری را برای نیتریفیکاسیون تولید می‌نماید. مقایسهٔ راندمان نیتریفیکاسیون در تیمارهای شاهد، آلژینات و ریزجلبک‌های تثبیت شده نشان می‌دهد که در تیمار شاهد و آلژینات حداکثر راندمان حدود ۲۲ و ۴۳ درصدی توسط باکتری

[1] Neubaver Hemocytometer
[2] Alginic acid sodium salt, Viscosity approximately 3500 cps.
[3] Stirrer
[4] Standard methods for examination of water and wastewater
[5] Colorimetric method
[6] Murphy-Riley method
[7] Jenway
[8] MetrOhm 744
[9] Blank
[10] Alginate

www.SID.ir

Archive of SID

در روز دوازدهم رخ داده در صورتی که برای تیمارهای حاوی ریزجلبک راندمان نیتریفیکاسیون ۲۲ درصدی و بیش از آن بسته به گونهٔ ریزجلبک تا چهار روز اول حاصل شده و روند افزایشی تا روز هشتم ادامه می‌یابد و از این روز تا پایان دوره ریزجلبک NO_3^--N را مصرف می‌نماید. درنتیجه جذب نیتروژن- آمونیمی و همزمان با آن تولید اکسیژن توسط ریزجلبک باعث می‌شود که باکتری فرآیند نیتریفیکاسیون سریع‌تر صورت گرفته، این فرم از نیتروژن را زودتر از دسترس ریزجلبک خارج ساخته و موجب گردد که نیتروژن- نیتراتی به عنوان تنها منبع نیتروژنی موجود و قابل جذب مورد مصرف ریزجلبک قرار گیرد. در نتیجه هم- تثبیتی ریزجلبک و باکتری می‌تواند راندمان حذف فرم‌های مختلف نیتروژن را تسریع ببخشد [۲۴].



www.SID.ir

شکل ۱- روند تغییرات نیتروژن- نیتراتی در تیمارهای مختلف طی ۱۲ روز در فاضلاب تصفیه‌خانه فاضلاب شیراز

اختلاف تقریباً ۲۰ درصدی در راندمان نیتریفیکاسیون تا روز دوازدهم در تیمارهای شاهد و آلژینات بیانگر این است که نفوذ باکتری به ماتریکس آلژینات موجب شده که رشد و فعالیت آن بیشتر شود و راندمان بالاتری در نیتریفیکاسیون را نتیجه دهد [۲۲].

تیمارهای کلرلا در میان سایر تیمارها، اکسیژن بیشتری تولید کرده و بالاترین نیترات‌سازی را تا روز هشتم داشته است. اما در دورهٔ سوم درصد کمتری از نیتروژن- نیتراتی محیط را جذب نموده است. از میان گونه‌های مورد مطالعه، گونهٔ ریزجلبک کلامیدوموناس دارای بالاترین راندمان حذف نیتروژن— نیتراتی بوده و راندمان حذف آن در دوره دوازده روزه ۸۲/۳۸٪ می‌باشد. بنابراین به عنوان گزینهٔ انتخابی در رسیدن به این منظور می‌باشد. در صورتی که سیستم‌های تصفیه‌ای به صورت حوضچه‌های سری طراحی شوند، می‌توان از گونهٔ کلرلا به علت اکسیژن‌زایی و افزایش راندمان نیتریفیکاسیون، و از گونهٔ کلامیدوموناس برای کاهش نیتروژن- نیتراتی تولیدی استفاده کرده و نیتروژن معدنی موجود در فاضلاب خروجی مرحلهٔ دوم تصفیه را به صورت بیولوژیکی کاهش داد.

۳-۲- بررسی راندمان حذف ارتوفسفات توسط گونه‌های مختلف ریزجلبک

درصد تغییرات مقادیر اندازه‌گیری‌شدهٔ ارتوفسفات نمونه‌ها در بازه‌های چهار روزه و در کل دورهٔ ۱۲ روزه در جدول (۳) ارائه (اعداد مثبت بیانگر راندمان حذف و اعداد منفی بیانگر راندمان افزایش PO_4^{3-}-P می‌باشد) و روند تغییرات مقادیر PO_4^{3-}-P در شکل (۲) نشان داده شده است. متوسط مقدار اولیهٔ ارتوفسفات، ۱/۳۷ mg/L می‌باشد که در مدت ۱۲ روز در دو تیمار کلامیدوموناس و کروکوکوس به کمترین مقدار خود یعنی ۰/۳۹ و ۰/۳۸ میلی‌گرم بر لیتر کاهش یافته است. در تیمار شاهد، ارتوفسفات کاهش و در تیمار آلژینات میزان آن افزایش یافته است.

نمونهٔ فاضلاب خروجی قبل از مرحلهٔ کلرزنی از تصفیه‌خانه برداشت شد. لذا جهت رفع عوامل بیماری‌زا و سایر باکتری‌ها استریل کردن نمونه‌ها در دستگاه اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. استریل کردن فاضلاب باعث رسوب مقداری از ارتوفسفات می‌گردد [۲۵]. وجود مقادیر بالای کلسیم در آب شیراز و ورود آن به فاضلاب و نیز pH بیش از ۸ نمونه‌های فاضلاب استریل شده، ترسیب شیمیائی فسفات کلسیم را امری بدیهی می‌سازد.

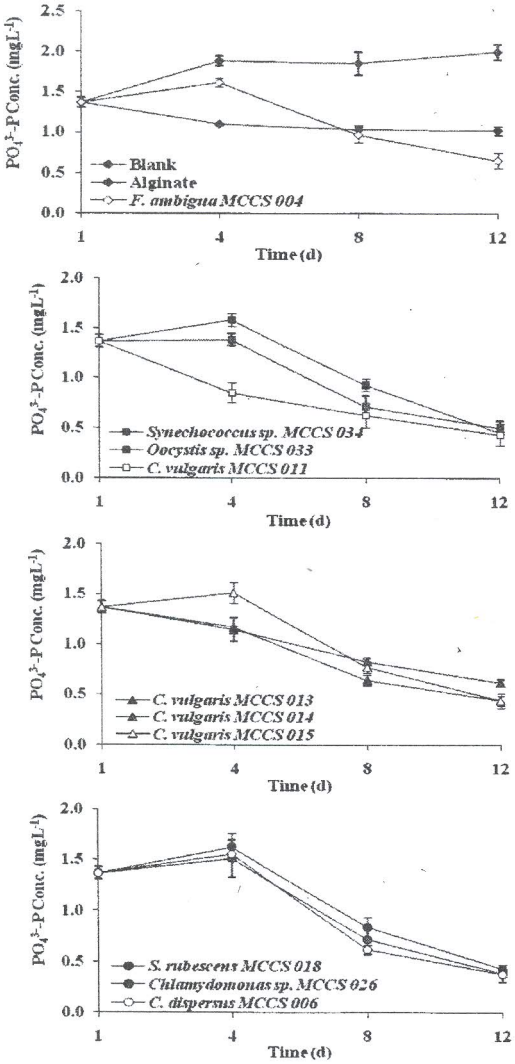
Archive of SID

جدول ۳- درصد تغییرات مقادیر ارتوفسفات در دوره‌های ۴ روزه و در کل دوره در تیمارهای مختلف در فاضلاب تصفیه‌خانه فاضلاب شیراز

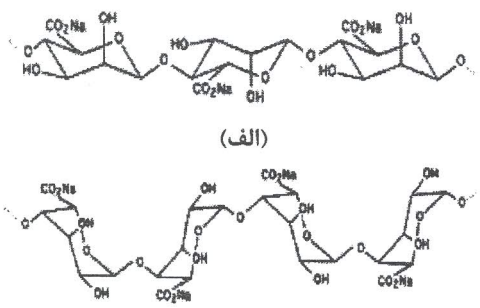
تیمار	درصد تغییرات PO_4^{3-}-P در بازه زمانی			
	۱-۴	۴-۸	۸-۱۲	۱-۱۲
Blank	۱۹/۵۷	۶/۱۳	۰/۶۸	۲۵/۰۲
Alginate	-۳۷/۷۳	۱/۵۸	-۷/۷۲	-۴۶/۰۱
F. ambigua	-۱۸/۰۹	۳۹/۸۵	۳۲/۸۵	۵۲/۳۰
Synechococcus	-۱۵/۶۸	۴۱/۳۲	۵۱/۰۸	۶۶/۷۹
Oocystis	-۱/۱۵	۴۸/۴۳	۲۹/۷۱	۶۳/۳۴
C. vulgaris 011	۳۷/۹۲	۲۶/۲۳	۳۰/۸۳	۶۸/۳۲
C. vulgaris 013	۱۴/۷۵	۴۴/۹۱	۳۱/۳۱	۶۷/۷۴
C. vulgaris 014	۱۶/۴۰	۲۷/۹۸	۲۵/۲۷	۵۵/۰۱
C. vulgaris 015	-۱۰/۳۴	۴۹/۰۲	۴۲/۶۵	۶۷/۷۴
S. rubescens	-۱۸/۸۹	۴۸/۳۲	۴۹/۰۳	۶۸/۶۸
Chlamydomonas	-۱۰/۲۶	۵۲/۷۰	۴۶/۱۴	۷۱/۹۱
C. dispersus	-۱۳/۸۴	۶۰/۰۹	۳۹/۱۳	۷۲/۳۵

آلژینات پلی‌ساکاریدی است که از جلبک‌های قهوه‌ای استخراج شده و در ساختار آن دو ترکیب α -L- guluronic acid و β- D- mannuronic acid وجود دارد. در شکل (۳) ساختار این دو ترکیب نشان داده شده است [۲۶]. در ساختار هر دو ترکیب، یون سدیم (Na^+) وجود دارد. حضور صفحات آلژینات در محیطی که حاوی رسوبات فسفات کلسیم است باعث می‌گردد که یون کلسیم در جای یون سدیم در ساختار آلژینات قرار گرفته و بر مقاومت صفحات تثبیت بیفزاید و با انحلال رسوبات، ارتوفسفات را افزایش دهد. در تیمار آلژینات هیچگونه ریزجلبک مصرف‌کنندهٔ ارتوفسفات وجود ندارد، لذا افزایش آن تا روز دوازدهم ادامه می‌یابد.

در تیمارهای حاوی ریزجلبک بجز سه تیمار کلرلا (MCCS 011)، کلرلا (MCCS 013) و کلرلا (MCCS 014)، تا روز چهارم میزان ارتوفسفات افزایش یافته ولی از روز چهارم توسط ریزجلبک مصرف می‌شود. امّا در سه تیمار مذکور از روز اول میزان ارتوفسفات کاهش یافته است. علت تفاوت عملکرد این سه تیمار با سایر تیمارها را می‌توان درنحوهٔ تثبیت کردن سلول‌ها بیان کرد. سه ریزجلبک کلرلا (MCCS 011)، کلرلا (MCCS 013) و کلرلا (MCCS 014)، در یک صفحهٔ آلژینات به حجم ۲۰ cc تثبیت شدند و به دلیل مشکل در وارد کردن صفحات به داخل ارلن، سایر گونه‌ها در ۴ صفحه کوچکتر به حجم‌های مساوی ۵ cc به ازای هر تکرار، تثبیت شدند. تفاوت در نحوهٔ تثبیت موجب تفاوت میزان تبادل کاتیونی و در نتیجه تفاوت در عملکرد صفحات ریزجلبک تثبیت شده گردیده است.



شکل ۲- روند تغییرات ارتوفسفات در تیمارهای مختلف طی ۱۲ روز در فاضلاب تصفیه‌خانه فاضلاب شیراز



(الف)

(ب)

شکل ۳- الف) ساختار اسید پلی- منیوریک سدیم [1]، ب) ساختار اسید پلی- گلورنیک سدیم [2] [۲۶].

[1] Sodium polymannoronic acid
[2] Sodium polyguluronic acid

Archive of SID

در تیمار شاهد، جذب ارتوفسفات توسط باکتری به عنوان منبع تغذیه‌ای صورت گرفته و کاهش ۲۵ درصدی در PO_4^{3-}-P ایجاد می‌نماید. در میان تیمارهای حاوی ریزجلبک، دو تیمار کلامیدوموناس و کروکوکوس بالاترین راندمان حذف PO_4^{3-}-P به ترتیب ۷۱/۹۱٪ و ۷۲/۳۵٪ را دارند.

از آنجا که ریزجلبک کلامیدوموناس بالاترین راندمان حذف نیتروژن- نیتراتی و ارتوفسفات را از فاضلاب شهری داشته، به عنوان گونهٔ انتخابی معرفی خواهد شد.

جدول ۴- درصد تغییرات مقادیر pH در دوره‌های ۴ روزه و در کل دوره در تیمارهای مختلف در فاضلاب تصفیه‌خانه فاضلاب شیراز

تیمار	درصد تغییرات pH در بازه زمانی			
	۱-۴	۴-۸	۸-۱۲	۱-۱۲
Blank	-۰/۶۹	-۰/۷۴	-۰/۳۱	-۱/۷۵
Alginate	-۴/۶۷	-۳/۱۷	۱/۲۲	-۶/۶۷
F. ambigua	۱/۴۷	۱/۷۴	۷/۶۱	۱۰/۵۴
Synechococcus	۲/۱۳	۳/۷۰	۷/۸۲	۱۳/۱۲
Oocystis	۰/۵۷	۰/۶۴	۱۰/۵۸	۱۱/۶۶
C. vulgaris 011	۹/۳۷	۲/۴۰	۳/۸۶	۱۴/۹۵
C. vulgaris 013	۸/۴۸	-۱/۷۸	۶/۸۵	۱۳/۲۴
C. vulgaris 014	۷/۵۱	۰/۸۷	۶/۰۴	۱۳/۸۶
C. vulgaris 015	۷/۵۱	۰/۹۸	۷/۳۵	۱۵/۱۵
S. rubescens	۶/۸۹	۲/۰۵	۵/۶۱	۱۳/۹۲
Chlamydomonas	۷/۰۲	۴/۳۱	۵/۳۹	۱۵/۸۳
C. dispersus	۶/۱۲	۲/۹۲	۶/۱۹	۱۴/۵۱

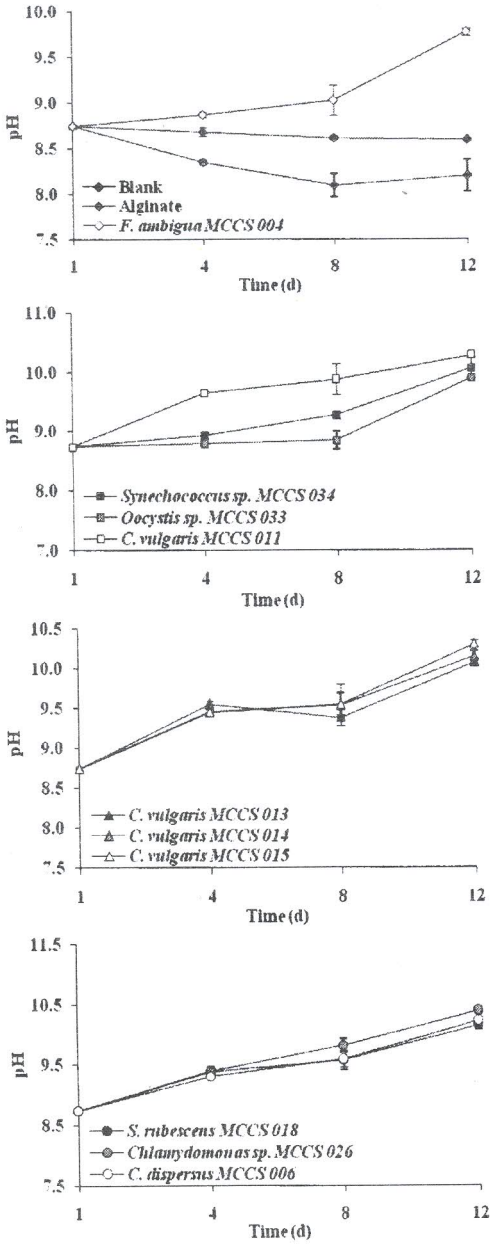
۳-۳- بررسی تغییرات pH در تیمارهای مختلف ریزجلبک

درصد تغییرات مقادیر اندازه گیری شده pH در بازه‌های چهار روزه و در کل دورهٔ ۱۲ روزهٔ آزمایش در جدول (۴) ارائه و روند تغییرات آن در شکل (۴) نشان داده شده است. در تیمار شاهد طی ۱۲ روز، ۱/۷۵ درصد و در تیمار آلژینات ۶/۶۷ درصد کاهش یافته است. کاهش pH در تیمارهای شاهد و آلژینات به علت نیتریفیکاسیون باکتری می‌باشد که طبق رابطهٔ (۱) همزمان با رشد سلول باکتریایی ($C_5H_7O_2N$)، تولید H^+ صورت گرفته در نتیجه pH کاهش می‌یابد. در سایر تیمارها با توجه به واکنش ارائه شده در رابطه (۲)، طی فتوسنتز و رشد ریزجلبک (CH_2O)، OH^- تولید و pH محیط افزایش می‌یابد [۲۷].

بیشترین درصد افزایش pH (۱۵/۸۳٪)، مربوط به تیمار کلامیدوموناس می‌باشد.

$$22NH_4^+ + 37O_2 + 4CO_2 + HCO_3^- \longrightarrow C_5H_7O_2N + 21NO_3^- + 20H_2O + 42H^+ \quad (۱)$$

$$HCO_3^- + H_2O \longrightarrow CH_2O + O_2 + OH^- \quad (۲)$$



شکل ۴- روند تغییرات pH در تیمارهای مختلف در فاضلاب تصفیه‌خانه فاضلاب شیراز

www.SID.ir

Archive of SID

۳-۴- تحلیل آماری نتایج

برای تحلیل آماری نتایج، داده‌های اندازه‌گیری شده NO_3^--N، PO_4^{3-}-P و pH مربوط به هر یک از تیمارها با تیمار شاهد در سطح ۹۵٪ مقایسه شدند. در جدول (۵) مقادیر P-value ارائه شده است.

نتایج نشان می‌دهد که در مقادیر اندازه‌گیری شدهٔ نیتروژن- نیتراتی، در کلیهٔ تیمارها به جز تیمارهای آلژینات و ریزجلبک ساینککوس اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد وجود دارد. در نتیجه حضور ریزجلبک در محیط علاوه بر افزایش راندمان نیتریفیکاسیون باکتری، بر کاهش نیتروژن- نیتراتی تأثیر دارد. دی- باشن و همکاران [۲۲] بیان کردند که استفاده از ریزجلبک به همراه باکتری باعث افزایش راندمان حذف مواد مغذی در مقایسه با تیمارهای حاوی ریزجلبک شده است به طوری که راندمان حذف نیتروژن- نیتراتی و ارتوفسفات در حالت اول به ترتیب ۱۵ و ۳۶ درصد در مدت ۶ روز بوده در حالی که ریزجلبک به تنهایی ۶ و ۱۹ درصد از نیترات و ارتوفسفات را حذف کرده است.

درمقادیر اندازه‌گیری شدهٔ ارتوفسفات در تیمارهای ریزجلبک ساینککوس، کلرلا(MCCS 015)، سندسموس، کلامیدوموناس و کروکوکوس اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد مشاهده می‌شود. چنان که بسیاری از محققین، قابلیت بالای سه گونهٔ کلرلا ولگاریس، کلامیدوموناس و سندسموس را در مقایسه با سایر گونه‌ها در حذف مواد مغذی گزارش نمودند [۱۳ و ۲۸]. در مقادیر pH در کلیهٔ تیمارها اختلاف با تیمار شاهد معنی‌دار شده که این اختلاف در تیمارهای حاوی ریزجلبک بیشتر می‌باشد.

جدول ۵- مقادیر P-value در تحلیل آماری داده‌های اندازه‌گیری شدهٔ NO_3^--N، PO_4^{3-}-P و pH

تیمار	پارامتر اندازه‌گیری شده		
	NO_3^--N	PO_4^{3-}-P	pH
Alginate	۰/۱۵۱۲	۰/۱۹۵۷	۰/۰۲۰۳
F. ambigua	۰/۰۲۳۳	۰/۰۷۲۴	۰/۰۰۵۱
Synechococcus	۰/۲۷۲۵	۰/۰۴۷۶	۰/۰۰۲۵
Oocystis	۰/۰۲۸۸	۰/۰۶۲۰	۰/۰۰۳۰
C. vulgaris 011	۰/۰۱۲۲	۰/۰۸۲۹	۰/۰۰۱۸
C. vulgaris 013	۰/۰۲۷۰	۰/۰۶۸۶	۰/۰۰۳۰
C. vulgaris 014	۰/۰۱۳۸	۰/۱۳۱۱	۰/۰۰۲۶
C. vulgaris 015	۰/۰۰۷۵	۰/۰۴۶۹	۰/۰۰۱۹
S. rubescens	۰/۰۲۲۲	۰/۰۳۹۴	۰/۰۰۲۵
Chlamydomonas	۰/۰۰۹۸	۰/۰۳۹۹	۰/۰۰۱۵
C. dispersus	۰/۰۲۴۰	۰/۰۳۳۴	۰/۰۰۲۱

www.SID.ir

۴- نتیجه گیری

در این پژوهش، برخی گونه‌های ریزجلبک شناسایی شده در استان فارس را در آلژینات سدیم تثبیت کرده، عملکرد آن‌ها در حذف نیتروژن- نیتراتی و ارتوفسفات از فاضلاب خروجی تصفیه خانه فاضلاب شیراز بررسی شد. نتایج نشان داد که ریزجلبک *کلامیدوموناس* در مقایسه با سایر گونه‌ها، بالاترین راندمان حذف مواد مغذی را دارد. همچنین گونهٔ *کلرلا* با بالاترین میزان تولید اکسیژن، شرایط را برای نیتریفیکاسیون بهتر باکتری مهیا می‌سازد. بنابراین می‌توان در فتوبیوراکتورها از *کلرلا* در فرآیند نیتریفیکاسیون و از *کلامیدوموناس* در حذف نیتروژن- نیتراتی تولیدی و ارتوفسفات استفاده نموده و میزان آن‌ها را در فاضلاب خروجی کاهش داد.

۵- مراجع

[1] Martinez Sancho, M. E., Jimenez Castillo, J. M., Espinola Lozano, J. B., El Yousfi, F., "Sistemas algas–bacterias para tratamiento de residuos liquidos", Ing. Quim.,1993, 25, 131–135.

[2] Munoz, R., Kollner, C., Guieysse, B., "Photosynthetically oxygenated salicylate biodegradation in a continous stirred tank photobioreactor", Biotechnol. Bioeng. , 2004, 87 (6), 797–803.

[3] Laliberte , G., Proulx, G., Pauw, N., De la Noue, J., "Algal technology in wastewater treatment", Ergenisse Limnol., 1994, 42, 283–302.

[4] Oswald, W.J., "My sixty years in applied algology", J. Appl. Phycol., 2003, 15, 99–106.

[5] Semple, K. T., Cain, R. B.; Schmidt, S., "Biodegradation of aromatic compounds by microalgae", FEMS Microbiol. Lett., 1999, 170, 291–300.

[6] Subaramaniana, G., Uma, L., "Role of cyanobacteria in pollution abatement. In: Sinha, M.P. (Ed.)", Recent Advances in Ecobiological Research, 1997, 1, 435–443.

[7] Van Hille, R. P.; Boshoff, G. A.; Rose, P. D., "A continous process for the biological treatment of heavy metal contaminated acid mine water", Resourc. Conserv. Recycl., 1999, 27, 157–167.

[8] Yu, R-Q., Wang, W-X., "Biokinetics of cadmium, selenium, and zinc in freshwater alga Scenedesmus obliquus under different phosphorus and nitrogen conditions and

Archive of SID

properties of alginate gel beads", Biotechnol Bioeng., 1989, 33, 79–89.

[20] 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 and Microbial Tech., 2006, 38, 135-141.

[21] Moreno-Garrido, I., "Microalgae immobilization: Current techniques and uses", Bioresource Tech., 2008, 99 (10), 3949-3964.

[22] de-Bashan, L.E.; Hernandez, J.P., Morey, T., Bashan, Y., "Microalgae growth-promoting bacteria as ''helpers'' for microalgae: a novel approach for removing ammonium and phosphorus from municipal wastewater", Water Research, 2004, 38, 466-474.

[23] American Public Health Association. "Standard methods for the examination of water and wastewater", 18th edition, Washington, DC,2005.

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

[25] Hernandez, J.P., de-Bashan, L.E., Bashan, Y., "Starvation enhances phosphorus removal from wastewater by the microalgae Chlorella spp. Coimmobilized with Azospirillum brasilense", Enzyme and Micorbial Tech., 2006, 38, 190-198.

[26] "Cybercolloieds" Alginate. http://www.cybercolloids.net/library/alginate/structure.php, 2007.

[۲۷] ترکیان، ا.، احمدی، م.، "بیوتکنولوژی زیست محیطی: مبانی و کاربردها"، مؤسسه انتشارات دانشگاه صنعتی شریف، ۱۳۸۵.

[28] de-Bashan, L.E., Bashan, Y. "Immobilized microalgae for removing pollutants: Review of practical aspects", Bioresource Tech., 2010, 101, 1611-1627.

metal transfer to Daphnia magna", Environ. Pollut., 2004, 129, 443–456.

[9] Mallick, N., "Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N, P and metal removal: a review", Biometals, 2002, 15, 377–390.

[10] Schumacher, G., Blume, T., Sekoulov, I., "Bacteria reduction and nutrient removal in small wastewater treatment plants by an algal biofilm", Water Sci. Technol., 2003, 47, 195–202.

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

[12] Mallick, N., Rai, L. C., "Removal of inorganic ions from wastewater by immobilized microalgae", World J. Microbiol Biotechnol., 1994, 10, 439–443.

[13] Tam, N. F. Y., Wong, Y. S., "Effect of immobilized microalgae bead concentrations on wastewater nutrient removal", Envir. Pollution, 2000, 145-151.

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

[15] Fierro, S., Sanchez-Saavedra, M.d.P., Copalcua, C. "Nitrate and phosphate removal by chitosan immobilized Scenedesmus", Bioresource Tech., 2008, 99(5), 1274-1279.

[16] Thakur, A., Kumar, H. D. "Use of natural polymers as immobilizing agents and effects on the growth of Dunaliella salina and its glycerol production", Acta Biotechnologica, 1999, 19, 37- 44.

[17] Lau, P.S., Tam, N.F.Y., Wong, Y.S. "Wastewater Nutrients (N and P) Removal by Carrageenan and Alginate Immobilized Chlorella vulgaris", Enviro. Technol., 1997, 18, 945-951.

[18] Pérez-Martínez, C., Sánchez-Castillo, P., Jiménez-Pérez, M.V. "Utilization of immobilized benthic algal species for N and P removal", J. Appl. Phycol, 2010, 22, 277-282.

[19] Martinsen, A., Skjak-Bræk, G., Smidsrød, O., "Alginate as immobilization material. I. Correlation between chemical and physical

www.SID.ir