

تصفیه فاضلاب شهری به وسیله ریز جلبک بومی

Chlorella.sorokiniana pa.19 با استفاده از نانو ماده آمینو کلی منیزیم

معصومه پنبه کاربیشه^۱، حسن امینی راد^{۲*}

۱- دانشکده عمران و محیط زیست، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، بابل، ایران، m.panbehkar@stu.nit.ac.ir

۲- دانشکده عمران و محیط زیست، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، بابل، ایران، h.a.rad@nit.ac.ir

چکیده

ریز جلبک‌ها به عنوان میکروارگانیسم‌های آبی تک سلولی یوکاریوتی می‌توانند برای تصفیه انواع مختلف فاضلاب شهری و صنعتی مورد استفاده قرار گیرند. امروزه به دلیل هزینه بالای سنتز محیط کشت در مقیاس صنعتی، می‌توان از فاضلاب به عنوان محیط کشت مناسب، مغذی، ارزان و قابل دسترس استفاده نمود. مهندسی نانومواد به عنوان رشته نسبتاً جدید، راه‌حل‌های مؤثری را برای بهینه‌سازی فرآیند تصفیه فاضلاب به وسیله ریز جلبک پیشنهاد داده است. هدف این پژوهش، بررسی تجربی تأثیر نانوماده آمینو کلی منیزیم بر رشد زیست توده ریز جلبک بومی *Chlorella.sorokiniana* pa.19 در محیط کشت فاضلاب خانگی شهر ساری بود. در این راستا، تأثیر غلظت‌های مختلف نانو ماده آمینو کلی منیزیم سنتز شده بر وزن خشک زیست توده، نرخ رشد مخصوص، حذف آمونیاک و فسفات مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی مشخصات و کیفیت نانوماده سنتز شده از آنالیز طیف سنجی پراش اشعه ایکس (XRD)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (FE-SEM) بر روی نانو ماده و آنالیز میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) بر روی ریز جلبک *Chlorella.sorokiniana* pa.19 انجام شد. مقادیر وزن خشک زیست توده، نرخ رشد مخصوص، بازده حذف آمونیاک و فسفات به ترتیب ۶۷/۱۶، ۴۳/۰۱، ۹۸/۳۳ و ۹۶/۸۷ درصد در دمای ۲۸ درجه سلسیوس، شدت تابش ۲۸۰۰ لوکس و مقدار ۰/۲ گرم در لیتر نانو ماده آمینو کلی منیزیم مشاهده شد. در غلظت کم نانوماده آمینو کلی منیزیم افزایش کمی و کیفی توده زیستی ریز جلبک مشاهده شد و غلظت‌های بالاتر از دوز بهینه سبب کاهش میزان رشد گونه شد. استفاده هم‌زمان نانوماده و ریز جلبک در تصفیه فاضلاب به عنوان روش دوست‌دار محیط زیست موجب بهبود وضعیت اکولوژیکی منابع آب، به ویژه با کاهش نیتروژن و فسفر در پساب فاضلاب خواهد شد.

کلمات کلیدی

ریز جلبک، فاضلاب، نانوماده آمینو کلی منیزیم، XRD، FE-SEM

افزایش جمعیت، فعالیت‌های کشاورزی و اقتصادی، موجب آلوده شدن منابع آبی در کشورهای توسعه‌یافته و در حال توسعه شده و تولید ناخواسته انواع فاضلاب صنعتی، شهری و کشاورزی را در پی خواهد داشت [۱]. تخلیه مستقیم فاضلاب خام به محیط‌های پذیرنده، به تهدیدی جدی برای محیط‌زیست تبدیل شده است. از این رو، هر نوع آلودگی قبل از تخلیه پساب به اکوسیستم نیازمند تصفیه است. روش‌های معمول تصفیه فاضلاب (هوازی، بی‌هوازی، فیزیکی، شیمیایی و حذف نیترژن - فسفر) بر اساس کاهش مقادیر مواد مغذی از فاضلاب مورد استفاده قرار می‌گیرند [۲]. با این حال، این روش‌ها با وجود راندمان حذف ۱۰ تا ۹۳ درصدی، نیازمند فضای زیاد، تجهیزات با مصرف انرژی بالا، فرآیند تصفیه ثالثیه و تولید مقادیر بالای لجن بوده و از نظر اقتصادی پایدار نیستند [۳]. روش‌های معمول تصفیه فاضلاب از لحاظ زیست‌محیطی، کاملاً ناپایدار بوده و پساب تولیدی از این مراکز مسئله استفاده مجدد از آب را طبق استانداردهای زیست‌محیطی تأمین نمی‌نماید [۴]. تصفیه بیولوژیکی فاضلاب‌های شهری یک رویکرد زیست‌محیطی مناسب جهت حفظ مواد مغذی و ذخیره‌سازی آن در زیست‌توده‌ها و بازیابی این منابع با ارزش در تصفیه لجن و بازگشت آن به طبیعت یعنی از محل تولید به مکان تولید است و پایداری را به همراه دارد [۵].

در تصفیه مقدماتی فاضلاب، پس از جداسازی آشغال، چربی، دانه و مواد معلق در حوض ته‌نشینی اولیه؛ در تصفیه ثانویه، مواد آلی معلق و محلول از طریق فرآیند بیولوژیکی حذف می‌شوند. فرآیندهای تصفیه معمول مختلفی مانند لجن فعال، فیلتر چکنده و لاگون برای فاضلاب شهری بیشتر کاربرد دارد و در آنها برای حذف آلاینده‌های مختلف از فاضلاب استفاده شده است. از این رو، یافتن یک فرآیند تصفیه فاضلاب مقرون به صرفه و یکپارچه برای حذف کامل آلاینده‌های مختلف (آلی و معدنی) از فاضلاب ضروری است [۶]. روش تصفیه فاضلاب بر اساس ریزجلبک برای انواع فاضلاب‌های صنعتی، کشاورزی و خانگی مورد توجه محققین قرار گرفته است. پتانسیل پاک‌سازی زیستی ریزجلبکی فاضلاب برای اولین بار توسط گلوکی و اوسلند^۱ در اوایل سال ۱۹۵۰ پیشنهاد شد. ریزجلبک‌ها می‌توانند از نور فراوان خورشید به عنوان انرژی مورد نیاز خود برای رشد و حذف هم‌زمان آلاینده‌ها استفاده کنند. در فرآیند موجود، معمولاً برای یک کیلوگرم اکسیژن بیوشیمیایی (BOD)، یک کیلووات ساعت انرژی مورد نیاز است. کشت ریزجلبک در محیط فاضلاب نه تنها نیازی به تأمین اکسیژن نداشته بلکه دی‌اکسیدکربن تولیدی را حذف نموده و همچنین موجب تولید سوخت زیستی می‌شود و از بقایای آن می‌توان با استفاده از هضم بی‌هوازی، گاز متان را نیز تولید نمود. به عبارت دیگر، زیست‌توده ریزجلبکی تولید شده را می‌توان با هضم بی‌هوازی برای تولید ۱ کیلووات ساعت / کیلوگرم BOD پردازش کرد [۷].

ریزجلبک‌ها، میکروارگانیسم‌های آبی تک‌سلولی یوکاریوتی هستند و می‌توانند برای تصفیه انواع مختلف فاضلاب با قابلیت تجمع‌پذیری، تجزیه و جذب بیولوژیکی مورد استفاده قرار گیرند. ریزجلبک‌ها برای رشد و نمو نیازمند مواد مغذی مانند نیترژن، فسفر، دی‌اکسیدکربن و دیگر ترکیبات آلی می‌باشند و در محیط فاضلاب این ترکیبات به مقدار مناسب وجود داشته که با مصرف آنها نه تنها به تصفیه فاضلاب کمک می‌کنند موجب تولید زیست توده با ارزش غذایی بالا می‌شوند [۵]. محققان زیادی از انواع ریزجلبک در تصفیه فاضلاب استفاده کردند. اوروتیا^۲ و همکاران (۲۰۱۹) میزان حذف مس (۶۴/۷٪) و Mo (۱۰۰٪) از پساب معدن به کمک *Chlorella vulgaris* در دمای ۳ ± ۲۰ درجه سلسیوس با استفاده از لامپ‌های فلورسنت سفید با شدت $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ در مدت زمان ۱۹۶ ساعت دست یافتند [۸]. الادل^۳ و همکاران (۲۰۱۸) از ریزجلبک *Chlorella sorokiniana* برای تصفیه فاضلاب شهری استفاده کردند. راندمان حذف $\text{NO}_3\text{-N}$ و $\text{NH}_3\text{-N}$ و فسفر کل (TP) به ترتیب ۷۴/۲٪، ۸۳/۳٪ و ۷۸٪ در مدت زمان ۱۰ روز و در دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس و شدت نور $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ مشاهده کردند [۹]. لوگانادان^۴ و همکاران (۲۰۲۰) ظرفیت کنسرسیوم ریزجلبکی متشکل از *Chlorella variabilis* و *Scenedesmus obliquus* برای تصفیه پساب‌های لبنی مصنوعی رقیق‌شده در شرایط آزمایشگاهی را ارزیابی کردند. تحت شرایط بهینه ریزجلبک‌ها توانستند ۷۰/۱۹٪ فسفات، ۸۶/۲۲٪ نیترژن آمونیاکی و ۵۴/۷۲٪ COD را حذف کنند [۱۰]. زو^۵ و همکاران (۲۰۱۷) با

¹ Oswald and Golueke

² Urrutia

³ Eladel

⁴ Loganathan

⁵ Zhou

استفاده از ریز جلبک اسپروولینا موفق به حذف ۷۹٪ TN و ۹۳٪ TP از فاضلاب شهری شدند [۱۱]. همچنین اسدی^۱ و همکاران (۲۰۱۹) در تصفیه اولیه بیشترین نرخ رشد ۲۳۳ g/L.d و در تصفیه ثانویه نرخ رشد ۱۸۵ g/L.d و راندمان بیش از ۸۰٪ حذف نیترات، فسفات، آمونیاک و COD در دمای ۲۸ درجه سلسیوس و شدت نور ۷۵۰۰ لوکس مشاهده کردند [۱۲].

پیشرفت‌های اخیر در حوزه مهندسی نانو، کاربرد نانوتکنولوژی در تصفیه فاضلاب را تسهیل کرده است. مهندسی نانومواد به عنوان رشته نسبتاً جدید، راه‌حل‌های مؤثری را برای اکثر مسائل فنی جهت تجزیه زیست‌محیطی با استفاده از ریزجلبک پیشنهاد داده است [۱۳]. به‌طور مثال افزایش انتقال نور با استفاده از نانومواد کربنی و نیز استخراج لیپید و افزایش راندمان برداشت ریزجلبک با استفاده از نانومواد مغناطیسی را می‌توان نام برد [۱۴]. همچنین نانو ذرات آمینوکلئ مغناطیسی کاتیونی (با توجه به خصوصیات منحصر به فرد فیزیکی و شیمیایی) برای تولید آستاکسانتین از ریزجلبک *H. pluvialis* مورد استفاده قرار گرفته است [۱۴]. کیم^۲ و همکاران (۲۰۲۰)، با مطالعه بر روی ریزجلبک *Microcystis.sp KW* و استفاده از نانو ماده آمینوکلئ منیزیم در راکتوری به قطر ۵ و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر در محیط کشت BG11، شدت تابش ۵۴۰۰ لوکس (معادل ۱۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) و در انکوباتور با سرعت ۱۲۵ دور بر دقیقه با دوره روشنایی به تاریکی ۱۲ به ۱۲ ساعت، افزایش ۲۰ درصدی زیست‌توده تولیدی را مشاهده کردند [۱۵]. ایکسیونگ^۳ و همکاران (۲۰۲۰) با استفاده از نانوماده CeO_2 با اندازه متوسط ۱۷۶ نانومتر و ریزجلبک *Scenedesmus obliquus* حذف مواد مغذی $72/1-85/6\%$ از نیتروژن کل (TN) و $49/7-44/6\%$ از کل فسفر (TP) را از فاضلاب مشاهده کردند [۱۶]. واسیستا^۴ و همکاران (۲۰۲۰) رشد ریزجلبک *Chlorosarcinopsis MAS04* را با استفاده از فاضلاب تصفیه شده اولیه (PTWW) و فاضلاب تصفیه شده ثانویه (STWW) با نانوماده ZnO بررسی کردند. این مطالعه نشان داد که افزودن ۱۰ میلی‌گرم در لیتر ZnO-NPs به PTWW حذف COD، TN، TP و کل کربن آلی (TOC) را به ترتیب ۸۵٪، ۹۷٪، ۸۷٪ و ۸۲٪ افزایش داد. همچنین، ریزجلبک‌های جدا شده در STWW با ۱۰ میلی‌گرم در لیتر ZnO-NPs حذف COD، TN، TOC و TP را به ترتیب ۸۰٪، ۸۵٪ و ۹۵٪ درصد نشان دادند [۱۷].

علی‌رغم تحقیقات گسترده در خصوص بهینه‌سازی شرایط کشت ریزجلبک‌ها، شرایط بهینه برای گونه‌های مختلف ریزجلبک‌ها می‌تواند متفاوت باشد. اخیراً ریزجلبک *Chlorella sorokiniana* pa.91، به عنوان یکی از گونه‌های جدید ریزجلبک برای تصفیه فاضلاب‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۱۸]. کیم و همکاران (۲۰۱۳) میزان رشد ریزجلبک *Chlorella sorokiniana* و راندمان حذف مواد مغذی در شرایط اتوتروفیک، هتروتروفیک و میکسوتروفیک را مورد بررسی قرار دادند و دریافتند شرایط هتروتروفیک از نظر رشد ریزجلبک و حذف نیتروژن و فسفر در مقایسه با شرایط اتوتروفیک و میکسوتروفیک برتری دارد و ریزجلبک تحت این شرایط می‌تواند برای استفاده در سیستم‌های تصفیه فاضلاب مفید باشد [۱۹].

در این پژوهش با سنتز نانو ماده آمینوکلئ منیزیم با استفاده از روش سل - ژل و به کارگیری آن تحت شرایط دما، میزان شدت تابش و سیکل هوادهی مورد نظر در محیط کشت فاضلاب شهر ساری، کمیت و کیفیت زیست‌توده تولیدی ریزجلبک *Chlorella sorokiniana* pa.91 و حذف نوترینت از فاضلاب مورد بررسی قرار گرفت. با به کارگیری غلظت‌های مختلف نانو ماده آمینوکلئ منیزیم در محیط فاضلاب که پیش از این مورد توجه قرار نگرفته است، سعی در ارتقای بهره‌وری کلی فرآیند شد. بنابراین هدف پژوهش حاضر، بررسی رشد و کیفیت زیست‌توده ریزجلبک بومی *Chlorella sorokiniana* pa.91 به همراه حذف نوترینت از فاضلاب با تغییر شرایط ذکر شده بود.

۲- روش تحقیق

۲-۱- خصوصیات فاضلاب

در این پژوهش، از فاضلاب ورودی به تصفیه‌خانه شهر ساری استفاده شد. پس از جداسازی جامدات از خروجی حوض چربی‌گیری، فاضلاب به عنوان محیط کشت ریزجلبک مورد استفاده قرار گرفت. قبل از استفاده، عمل اتوکلاو کردن فاضلاب امری ضروری است؛ زیرا

¹ Asadi

² Kim

³ Xiong

⁴ Vasishta

جمعیت زیادی از میکروارگانیسم‌های تخمیرکننده و باکتری‌های بی‌هوازی موجود در فاضلاب خام با سلول‌های ریز جلبک برای مواد مغذی موجود در آن رقابت می‌کنند. بنابراین محیط کشت ریز جلبک (فاضلاب شهری) قبل از تلقیح سویه، ابتدا در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و به مدت ۱۵ دقیقه استریل شده، سپس برای حفظ شرایط استریل زیر هود آزمایشگاهی عمل تلقیح ۱۰٪ حجمی انجام شد. مشخصات فاضلاب به عنوان محیط کشت ریز جلبک در جدول ۱ ارائه شده است. قبل از هر آزمایش، ذرات جامد موجود در فاضلاب با استفاده از سانتریفیوژ با سرعت ۳۵۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه از نمونه موردنظر جدا شد.

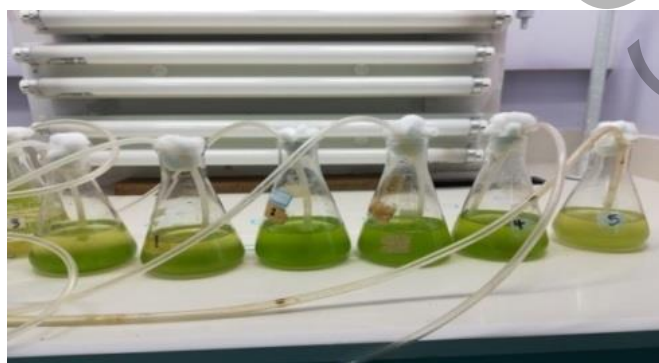
جدول ۱: کیفیت جریان ورودی فاضلاب، واحد ته‌نشینی اولیه و ثانویه تصفیه‌خانه ساری

Table 1: The quality of the wastewater inflow, primary and secondary sedimentation unit of the Sari treatment plant

پارامتر (mg/L)	ورودی به تصفیه‌خانه	خروجی از حوض ته‌نشینی اولیه	خروجی از حوض ته‌نشینی ثانویه
غلظت TSS	۲۷۵	۱۰۲	۲
غلظت BOD ₅	۲۰۵	۱۳۶	۵
غلظت COD	۴۱۰	۲۷۲	۱۶
غلظت TN	۳۵	۳۵	۰/۸
غلظت TP	۳	۳	۱/۵

۲-۲- شرایط رشد ریز جلبک در فاضلاب

در پژوهش تجربی حاضر، نمونه ریز جلبک *Chlorella.sorokiniana* pa.19 از پساب تصفیه‌خانه لبنی گلا واقع در شهرک صنعتی آمل استخراج شد [۱۸]. به منظور تهیه بانک، ریز جلبک *Chlorella.sorokiniana* pa.19 در محیط مایع و در ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری با حجم کاری ۱۰۰ میلی‌لیتر، در شیکر انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سلسیوس و با دور ۱۲۰ rpm با شدت نور تابیده بر سطح ارلن مایرها توسط لامپ به طور متوسط برابر ۲۸۰۰ لوکس (معادل ۵۱/۸ میکرو مول بر مترمربع بر ثانیه) و با دوره روشنایی- تاریکی ۱۲-۱۲ ساعت کشت داده شد؛ سپس در اواسط فاز لگاریتمی (بعد از یک هفته) محتویات ارلن‌ها به یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس انتقال داده شد. به منظور بررسی پارامترهای موردنظر، ریز جلبک *Chlorella.sorokiniana* pa.19 در محیط مایع و در ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری با حجم کاری ۲۰۰ میلی‌لیتر در غلظت‌های مختلف نانو ماده و توان هوادهی ۲۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه در شرایط روشنایی- تاریکی ۱۲-۱۲ ساعت متصل به تایمر در فاضلاب کشت داده شد (شکل ۱).



شکل ۱: پایلوت کشت ریز جلبک

Fig 1: Microalgae cultivation pilot

۳-۲- سنتز نانو ماده آمینوکلای منیزیم

سنتز نانوماده آمینوکلای منیزیم با روش سل - ژل انجام شد [۲۰]. به منظور سنتز آمینوکلای منیزیم (MgAC)، هگزا هیدرات کلرید منیزیم به آمینوپروپیل تری اتوکسی سیلان (APTES) به همراه اتانول اضافه و به مدت یک شبانه روز هم زده شد. دوغاب سفید تشکیل شده توسط دستگاه سانتریفیوژ جمع و پس از سه بار شستن با اتانول، خشک و در نهایت به پودر تبدیل گردید (شکل ۲). برای تأیید انحلال MgAC در آب، مقدار ۱۰ میلی گرم MgAC در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۵ دقیقه در حمام فراصوت قرار داده شد و بعد از حل شدن کامل، ظاهر شفاف آن مشاهده شد و در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس ذخیره گردید [۲۱].



شکل ۲: سنتز نانو ماده آمینوکلای منیزیم

Fig 2: Synthesis of magnesium-aminoclay nanomaterial

۴-۲- آنالیزهای نانوماده آمینوکلای منیزیم

نانو ماده سنتز شده با استفاده از تکنیک‌های اسپکتروسکوپی و میکروسکوپی شامل طیف‌سنجی پراش اشعه ایکس (XRD) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (FE-SEM) مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام آنالیز FE-SEM نمونه ماده سنتز شده به آزمایشگاه بیم گستر تابان ارسال و آنالیز XRD توسط آزمایشگاه صنعتی نوشیروانی بابل با استفاده از دستگاه اشعه ایکس و مدل PW1730 (کمپانی PHILIPS) با استفاده از نرم‌افزار X'Pert Pro، با فلز Cu و طول موج تابش $K\alpha_1$ معادل $1/54.06$ آنکستروم انجام شد. همچنین به منظور بررسی تغییرات اندازه سلولی ریز جلبک تحت تأثیر نانو ماده از آنالیز میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) توسط پژوهشکده نانو دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل استفاده شد.

۵-۲- روش‌های تحلیل و سنجش

سنجش شدت تابش به وسیله لوکس متر (LX-103 Lutron؛ تایوان) صورت گرفت. سنجش وزن خشک زیست توده (CDW) بر اساس قرائت یک روز در میان و چگالی نوری در طول موج ۶۸۰ نانومتر (OD) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Analytin, AJS-1500، آلمان) و با استفاده از کالیبراسیون وزن خشک - جذب (رابطه (۱)) انجام شد [۱۲].

$$CDW = 1.824OD_{680} + 0.043, (R^2 = 0.9889) \quad (1)$$

سرعت رشد ویژه (μ, d^{-1})، زمان دو برابر شدن سلول (T_D, d) و بازده تولید زیست توده ($P_B, gL^{-1}d^{-1}$) با استفاده از روابط (۲) تا (۴) [۲۲] به کمک قرائت جذب نمونه آماده شده توسط اسپکتروفتومتر انجام شد.

$$\mu = \ln(C_f / C_0) / (t_f - t_0) \quad (2)$$

$$T_D = 0.6931 / \mu \quad (3)$$

$$PB = (C_f / C_0) / (t_f - t_0) \quad (4)$$

C_0 و C_f به ترتیب نشان دهنده غلظت اولیه و نهایی زیست توده (گرم بر لیتر) و t_0 و t_f به ترتیب نشان دهنده زمان اولیه و نهایی فاز رشد سلولی (روز) است.

به منظور اندازه گیری غلظت آمونیاک و فسفات، مایع رویی برای اندازه گیری غلظت مواد مغذی بعد از سانتریفیوژ و جداسازی زیست توده از آن مورد بررسی قرار گرفت. تمامی آزمایش ها طبق روش های استاندارد انجام شدند [۱۹]. نرخ و درصد حذف مواد مغذی توسط روابط (۵) و (۶) محاسبه شدند [۲۳].

$$\text{نرخ حذف} = (C_f / C_0) / (t_f - t_0) \quad (۵)$$

$$\text{درصد حذف} = [C_0 - C_f / C_0] \times 100 \quad (۶)$$

تأثیر نانو ماده آمینوکی منیزیم بر زیست توده و پاسخ های نرخ رشد مخصوص (SGR)، وزن خشک (CDW) و حذف نوترینت از فاضلاب مورد بررسی قرار گرفت.

۳- نتایج و بحث

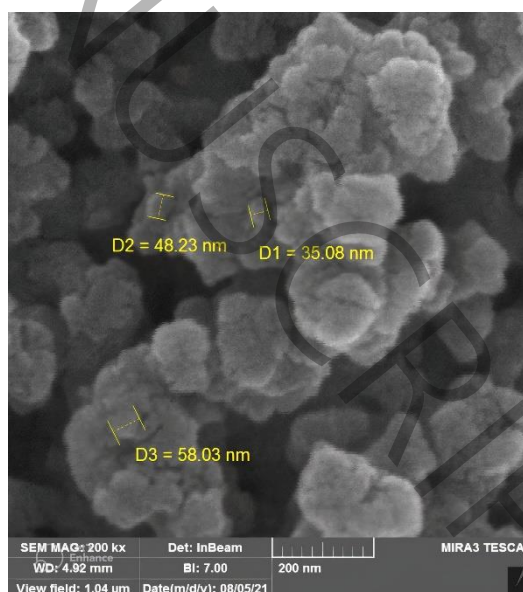
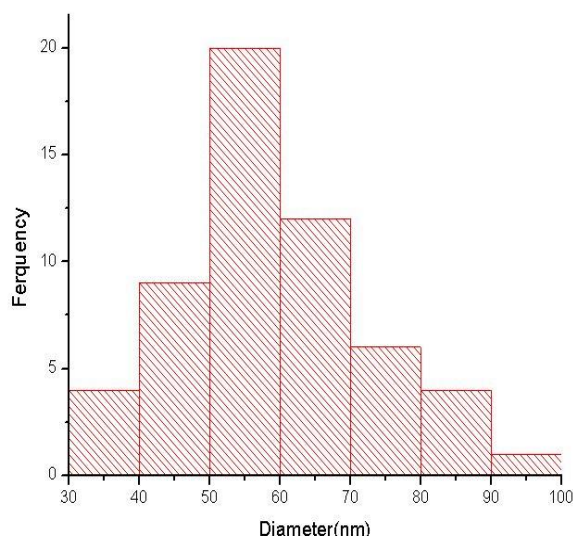
۳-۱- نتایج آنالیز نانو ماده آمینوکی منیزیم

از آنالیز FE-SEM برای مشاهده و بررسی ذرات بسیار ریز روی سطح سلول ها و ساختارهای کوچک استفاده می شود. تصاویر تهیه شده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی از نانومواد آمینوکی منیزیم (MgAC) در شکل ۳ ارائه شده است که با استفاده از آن می توان مورفولوژی سطح و هندسه نانو ذرات سنتز شده را مورد ارزیابی قرار داد.

اندازه بیشتر ذرات تولیدی در محدوده ۳۰-۶۰ نانومتر می باشند. با توجه به آزمایش های سایر محققین که در بسیاری از آن ها قطر نانو ماده آمینوکی منیزیم در محدوده ۳۰-۱۰۰ نانومتر ذکر شده است [۲۴]، [۲۵]، [۲۳] اندازه نانو ذرات در این تحقیق در محدوده مناسب تری تولید گردید. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (FE-SEM) از آمینوکی منیزیم مجموعه ای از ساختار لایه ای با ابعاد گسترش یافته میکرونی را در جهات مختلف نشان می دهد. اندازه این لایه ها ۳۰ تا ۱۵۰ نانومتر با ضخامت ۲ تا ۴ نانومتر بوده و ممکن است به صورت تک یا چندین لایه وجود داشته باشند.

(ب)

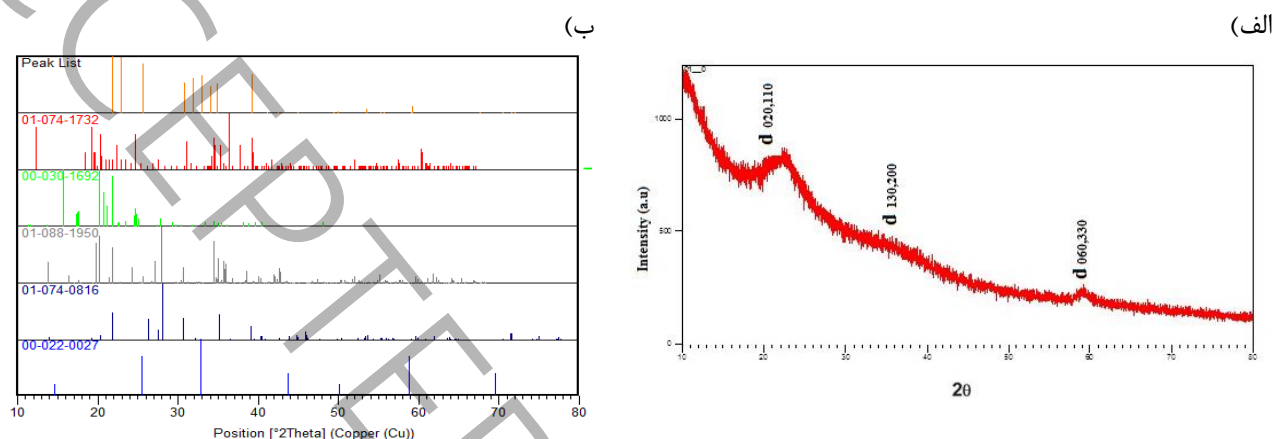
(الف)



شکل ۳: تصاویر Fe-SEM نانو ماده سنتز شده آمینوکی منیزیم (MgAC)، (الف) با دقت ۲۰۰ n.m، (ب) توزیع اندازه ذرات

Fig 3: Fe-SEM images of the synthesized magnesium-aminoclay nanomaterial (MgAC), a) with 200 nm accuracy, b) particle size distribution

نتایج آنالیز پراش اشعه ایکس (XRD) نانومواد سنتز شده در این تحقیق در شکل ۴ ارائه شده است. پیک اصلی نانو ماده MgAC در مقدار 2θ بین ۲۰ تا ۳۰ و معادل $21/83^\circ$ درجه با مقدار فاصله $d = 4/07$ آنگستروم اتفاق افتاد (شکل ۴ الف).



شکل ۴: نتایج XRD نانو ماده آمینوکلای منیزیم (MgAC) (الف) ساختار تشخیص داده شده؛ (ب) فازهای تشخیص داده شده

Fig 4: XRD results of magnesium-aminoclay nanomaterial (MgAC) a) recognized structure; b) detected phases

در ساختار کریستالی نانو ماده MgAC ساختار اکسید شده مواد، هیدروکسید سیلیکات منیزیم، نیتريت دی سیکلو هگز یلامین، هیدرات هیدروکسید سیلیکات منیزیم، سیلیکات منیزیم و استات آمونیاک منیزیم با مقدار استاندارد JCPDS به ترتیب ۱۷۳۲-۰۱-۰۷۴، ۱۶۹۲-۰۳۰-۰۰۰، ۱۹۵۰-۰۱-۰۸۸، ۰۸۱۶-۰۱-۰۷۴ و ۰۰۲۷-۰۰۲۲-۰۰۰ مشاهده شد (شکل ۲ ب). بر اساس نتایج به دست آمده، نانو ماده MgAC تشکیل شده است. بنابراین، نتیجه گیری می شود که چارچوب آلی برای MgAC-NPs به عنوان یک ساختار سیلیکات آمینوپروپیل که در امتداد دو جهت پیوندهای همبند هشت ضلعی MgO/OH بر روی اشکال بروسین در فرآیند اولیه به هم مرتبط است، تعیین می شود و نمایانگر ارتباط موفق مولکول های زیستی مانند ریز جلبک یا نانوماده MgAC است. سایر محققان نیز نتایج مشابهی را گزارش کرده اند. سایر محققان نیز نتایج مشابهی گزارش کردند [۲۶] - [۲۷] [۲۸] [۲۹].

۳-۲- بررسی غلظت های مختلف نانو ماده آمینوکلای منیزیم بر رشد ریز جلبک

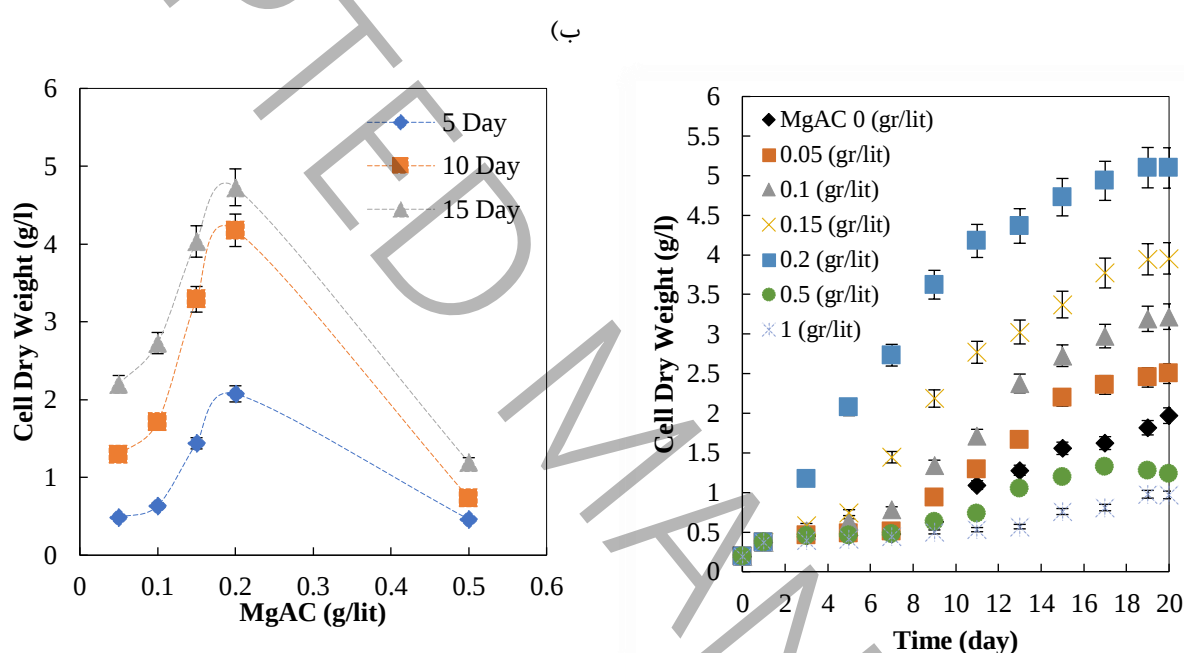
غلظت های مختلف نانوماده آمینوکلای منیزیم در مقادیر ۰/۵، ۰/۱، ۰/۱۵، ۰/۲، ۰/۵ و ۱ گرم بر لیتر بر رشد ریز جلبک مورد بررسی قرار گرفت. نانو ذرات آمینوکلای منیزیم به عنوان ۳-آمینوپروپیل منیزیم فیلوسیلیکات (APTES)^۱ شناخته می شوند. این ترکیب غنی از آمین بوده، با استفاده از ماده APTES و یون های منیزیم از طریق واکنش های سل-ژل ساخته می شود [۲۶]، [۳۰]. خواص فیزیکی-شیمیایی بی نظیر نانوماده آمینوکلای منیزیم موجب شده است تا از آن به عنوان یک افزودنی مفید در رشد ریز جلبک ها استفاده شود [۳۱]. انحلال بالا و انتشار در سطح کم، موجب شفافیت محلول می شود. نانوماده آمینوکلای منیزیم با بار کاتیونی مثبت موجب جذب مولکول های بیولوژیکی مضر می شود [۲۵]. MgAC به دلیل وجود آمین ها، موجب جذب سریع تر CO₂ در محیط های آبی می شود [۳۲]. از MgAC برای تحریک ریز جلبک در دریافت سریع تر دی اکسید کربن استفاده می شود. علاوه بر این، MgAC میزان اکسیژن فعال (ROS)^۲ محیط را افزایش داده، با ایجاد استرس محیطی موجب رشد ریز جلبک در کشت میکسوتروفیک می شود [۳۳]. سنتز آمینوکلای منیزیم با روش سل-ژل در دمای اتاق و به دور از تجهیزات پیچیده قابل انجام است [۳۴]. با توجه به مصرف کم نانو ماده برای افزایش رشد ریز جلبک و

¹ 3-aminopropyltriethoxysilane

² Reactive oxygen species

در نتیجه افزایش راندمان حذف نوترینت از فاضلاب، این روش در مقیاس صنعتی قابل اجرا و توجیه اقتصادی دارد. علاوه بر این آمینوکلئ منیزیم بعد از جذب توسط ریزجلبک از محیط خارج شده، مقدار بسیار ناچیزی که در فاضلاب می ماند بعد از گذشت زمان تأثیر خود را از دست می دهد. بنابراین، نانوماده آمینوکلئ منیزیم دوست دار محیط زیست است.

وزن خشک زیست توده تحت تأثیر نانوماده آمینوکلئ منیزیم مثبت بود (شکل ۵ الف). افزایش مقدار نانو ماده آمینوکلئ منیزیم تأثیر مثبت زیادی بر میزان رشد و انجام فرآیند فتوسنتز گذاشته، مقدار وزن خشک زیست توده به میزان ۵۳/۳٪ افزایش یافته است. با افزایش مقدار نانو ماده آمینوکلئ منیزیم از ۰/۰۵ به ۰/۲ گرم در لیتر در شدت تابش ثابت ۲۸۰۰ لوکس (معادل ۵۱/۸ میکرو مول بر مترمربع بر ثانیه) و دمای ۲۸ درجه سانتی گراد، مقدار زیست توده خشک ریزجلبک از ۲/۲ گرم بر لیتر به ۴/۷۲۸ گرم بر لیتر در مدت زمان ۱۵ روز افزایش یافت (شکل ۵ الف). با مقایسه روند رشد ریزجلبک در روزهای مختلف تحت تأثیر غلظت های مختلف نانو ماده آمینوکلئ منیزیم، بیشترین وزن خشک زیست توده در مقدار ۰/۲ گرم بر لیتر مشاهده شد (شکل ۵ ب).



شکل ۵: تأثیر نانو ماده آمینوکلئ منیزیم بر رشد ریزجلبک (الف) وزن خشک زیست توده، (ب) مقایسه وزن خشک زیست توده در زمان های مختلف

Fig 5: The effect of magnesium-aminoclay nanomaterial on the growth of microalgae a) the dry weight of biomass, b) comparison of the dry weight of biomass at different times

افزودن نانو ماده آمینوکلئ منیزیم در مقادیر کمتر از ۰/۵ گرم در لیتر، موجب افزایش رشد ریزجلبک خواهد شد و در مقادیر بالاتر از ۰/۵ گرم در لیتر با توجه به پتانسیل زتای منفی ریزجلبک و پتانسیل زتای مثبت نانو ماده، جذب الکترواستاتیکی اتفاق افتاده و لخته شکل می گیرد؛ در نتیجه ریزجلبک ته نشین شده و آماده برداشت خواهد بود [۲۴]. نانوماده آمینوکلئ منیزیم به دلیل توزیع ذرات با اندازه کوچک و اثر انحلال شفاف محیط کشت، موجب جذب سریع تر دی اکسید کربن از محیط کشت شده، با تبدیل به بی کربنات، کربن غیر آلی راحت تر در دسترس ریزجلبک قرار می گیرد؛ در نتیجه رشد ریزجلبک بهبود می یابد [۲۲]. با افزایش مقدار نانوماده، مقدار اکسیژن فعال افزایش یافته، با به وجود آمدن شرایط استرس زا از رشد ریزجلبک کاسته می شود؛ اما بر مقادیر اسیدچرب و اندازه سلولی ریزجلبک افزوده می شود [۳۵].

همچنین سینتیک رشد ریزجلبک در جدول ۲ ارائه شده است. با افزایش مقدار نانوماده آمینوکلئ منیزیم از ۰ به ۰/۲ گرم در لیتر، مقدار نرخ سرعت رشد ویژه (μ) و بازده تولید زیست توده (P_B) به ترتیب از ۰/۱۰۶ و ۰/۳۱۶ گرم بر لیتر در روز به ۰/۱۸۶ و ۰/۹۷ گرم

بر لیتر در روز در مدت زمان ۱۵ روز افزایش یافت. همچنین میزان زمان دو برابر شدن سلول (T_B)، از ۶/۵۲ روز به ۳/۷۱ روز کاهش یافت. با افزایش بیش از ۰/۲ گرم بر لیتر نانوماده، نرخ سرعت رشد و بازده تولید زیست توده به دلیل لخته‌های تشکیل شده کاهش یافته و زمان دو برابر شدن سلول افزایش می‌یابد.

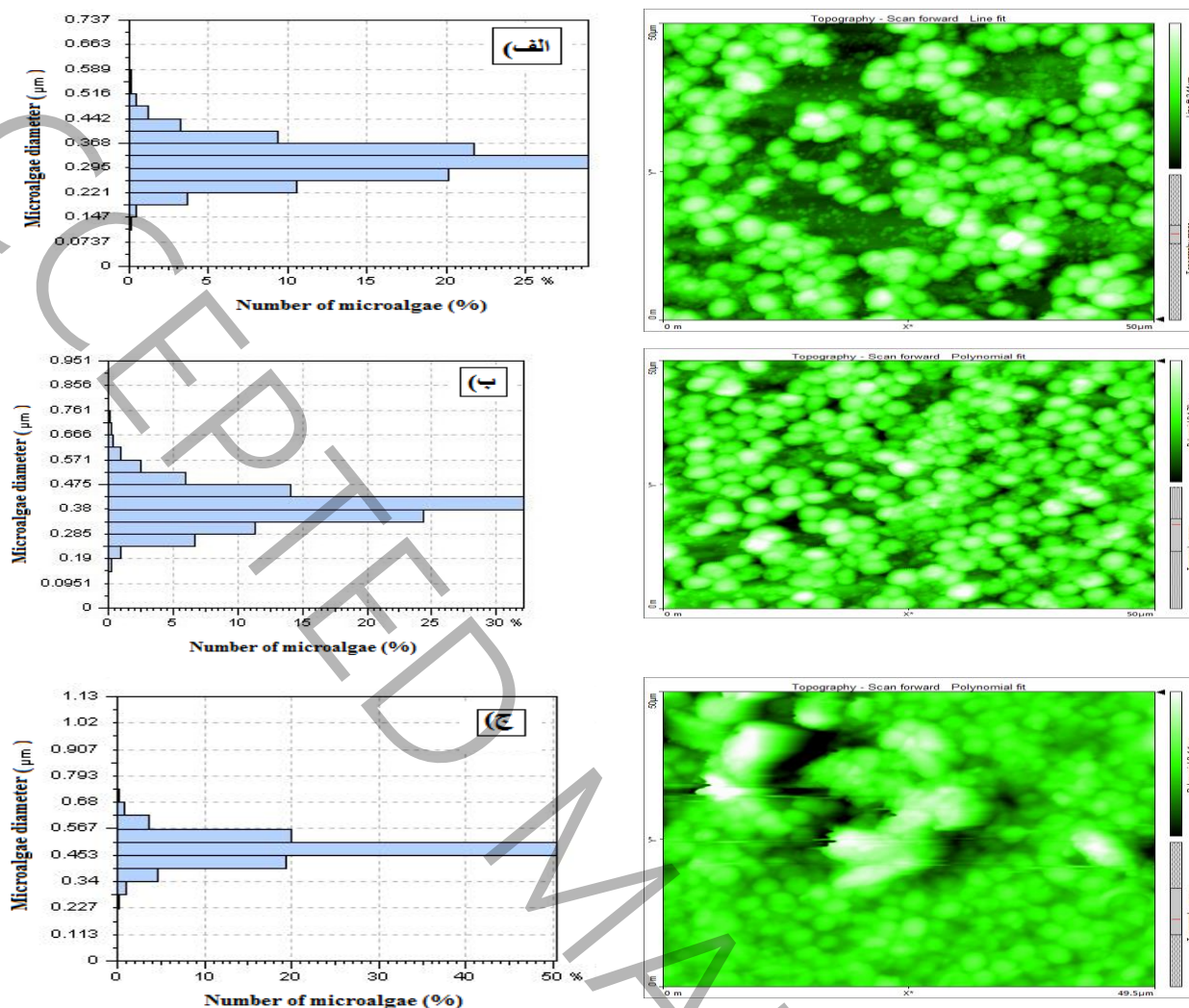
جدول ۲: پارامترهای سنتتیک رشد ریز جلبک بومی *Chlorella sorokiniana* pa.91 در مقادیر مختلف نانو ماده آمینوکلای منیزیم

Table 2: The synthetic parameters of the growth of *Chlorella sorokiniana* pa.91 in different amounts of magnesium-aminoclay nanomaterial

مقدار نانوماده آمینوکلای منیزیم (گرم در لیتر)	نرخ سرعت رشد ویژه (روزانه)	زمان دو برابر شدن سلول (روز)	بازده تولید زیست توده (گرم بر لیتر بر روز)
۰	0.106 ± 0.006	6.52 ± 0.15	0.316 ± 0.008
۰/۰۵	0.131 ± 0.01	5.27 ± 0.008	0.448 ± 0.017
۰/۱	0.146 ± 0.008	4.72 ± 0.006	0.557 ± 0.006
۰/۱۵	0.162 ± 0.009	4.27 ± 0.01	0.69 ± 0.008
۰/۲	0.186 ± 0.008	3.71 ± 0.009	0.97 ± 0.04
۰/۵	0.086 ± 0.007	7.96 ± 0.14	0.241 ± 0.018
۱	0.053 ± 0.016	12.87 ± 0.007	0.151 ± 0.009

۳-۳- تغییرات اندازه سلولی ریز جلبک *Chlorella sorokiniana* pa.91

برای مشاهده‌ی اجسام و نمونه‌هایی با ابعاد بسیار ریز در حد مولکول‌های کوچک و اتم‌ها، نمی‌توان از میکروسکوپ‌های معمولی استفاده کرد. بنابراین برای دیدن نمونه‌ها در اندازه بسیار کوچک باید از ابزارهای دقیق‌تر و پیشرفته‌تر استفاده شود. یکی از این ابزارها، میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) است. میکروسکوپ نیروی اتمی قادر به تصویربرداری با تفکیک مکانی اتمی از نمونه‌های رسانا، نارسانا و حتی نمونه‌های بیولوژیکی است [۳۲]. به منظور بررسی تغییرات اندازه سلولی ریز جلبک تحت تأثیر نانو ماده آمینوکلای منیزیم، تصاویر میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) گرفته شد (شکل ۶). اندازه سلولی ریز جلبک تحت تأثیر نانو ماده در حالت‌های کنترل، ۰/۲ و ۱ گرم در لیتر نانو ماده آمینوکلای منیزیم به ترتیب در محدوده ۰/۲۵۸-۰/۳۶۸، ۰/۲۸۵-۰/۴۷۵ و ۰/۳۴-۰/۵۶۷ میکرومتر قرار گرفت. با توجه به نتایج به دست آمده، با افزودن نانوماده آمینوکلای منیزیم در غلظت‌های ۰/۲ و ۱ گرم در لیتر نسبت به کنترل اندازه سلول به ترتیب ۲۹/۰۷ و ۵۴/۰۷ درصد افزایش یافته است. با وجود افزایش نانوماده بیش از ۰/۲ گرم در لیتر و کاهش تراکم سلولی، اندازه سلولی ریز جلبک افزایش یافته است. در غلظت بالای نانو ماده و به وجود آمدن شرایط استرس‌زا میزان اکسیژن فعال افزایش یافته، از تراکم سلولی کاسته می‌شود. اما با توجه به جذب سریع‌تر بی کربنات تحت شرایط استرس‌زای به وجود آمده، اندازه سلولی ریز جلبک افزایش یافته و میزان چربی بیشتری ذخیره می‌شود. روش‌های متداول افزایش چربی ریز جلبک تنها موجب افزایش ۲۲ درصدی چربی ریز جلبک می‌شوند. بنابراین، با توجه به کشت مجدد تحت تأثیر نانوماده آمینوکلای منیزیم و بازیافت آن و به وجود آمدن محیط کشت یک پارچه، افزودن نانوماده آمینوکلای منیزیم از لحاظ اقتصادی به صرفه‌تر خواهد بود [۳۶].



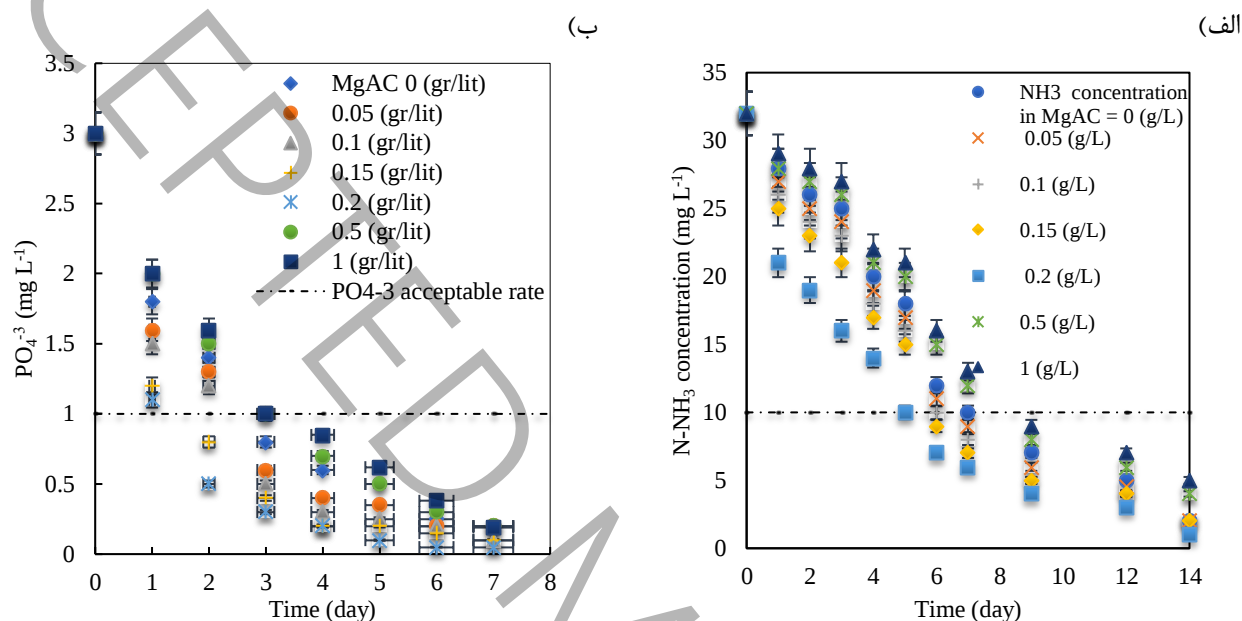
شکل ۶- تغییرات اندازه سلولی ریز جلبک در مقادیر مختلف نانو ماده آمینوکلای منیزیم (الف) کنترل، (ب) ۰/۲ گرم در لیتر، (ج) ۱ گرم در لیتر
Fig 6: Changes in microalgae cell size at different doses of aminoclay-magnesium nanomaterial: a) Control, b) 0.2 g/L, c) 1 g/L

۳-۴- حذف مواد مغذی (آمونیاک و فسفات) در فرآیند تصفیه فاضلاب توسط ریز جلبک *Chlorella sorokiniana* pa.91

حذف مواد آلی از جمله نیتروژن و فسفر از پساب توسط ریز جلبک به عوامل مختلفی مانند شدت تابش نور، نسبت نیتروژن به فسفر، چرخه تاریکی به روشنایی و نوع گونه ریز جلبک مرتبط است [۳۷]. با توجه به این که وجود آمونیاک و فسفات در پساب خروجی از تصفیه خانه ها مخاطرات زیست محیطی فراوانی دارد؛ در این تحقیق حذف مواد مغذی از فاضلاب توسط ریز جلبک در شرایط بهینه و افزودن نانوماده آمینوکلای منیزیم به عنوان افزودنی به محیط کشت (فاضلاب شهری) مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس قوانین اروپا در مورد تخلیه پساب، مقدار ۱۰ تا ۱۵ میلی گرم بر لیتر برای کل نیتروژن و ۱ تا ۲ میلی گرم بر لیتر برای کل فسفر بر اساس جمعیت قابل قبول است [۳۶].

با افزایش نانوماده آمینوکلای منیزیم از ۰ تا ۰/۲ گرم در لیتر و به دنبال آن افزایش رشد ریز جلبک، روند حذف آمونیاک و فسفات افزایش می یابد. با افزایش بیش از ۰/۲ گرم در لیتر نانو ماده آمینوکلای منیزیم و در نتیجه کاهش نرخ رشد ریز جلبک غلظت آمونیاک و فسفات با شیب ملایم تری کاهش می یابد (شکل ۷). با افزایش نانوماده از ۰ تا ۰/۲ گرم در لیتر مقدار آمونیاک و فسفات به ترتیب از ۳۲ و ۳ میلی گرم در لیتر به کمتر از ۱۰ و ۱ میلی گرم در لیتر کاهش یافته است. با افزودن ۱ گرم در لیتر نانوماده آمینوکلای منیزیم مقدار آمونیاک و فسفات به ترتیب به کمتر از ۵ و ۳ میلی گرم در لیتر در روز چهاردهم کشت خواهد رسید.

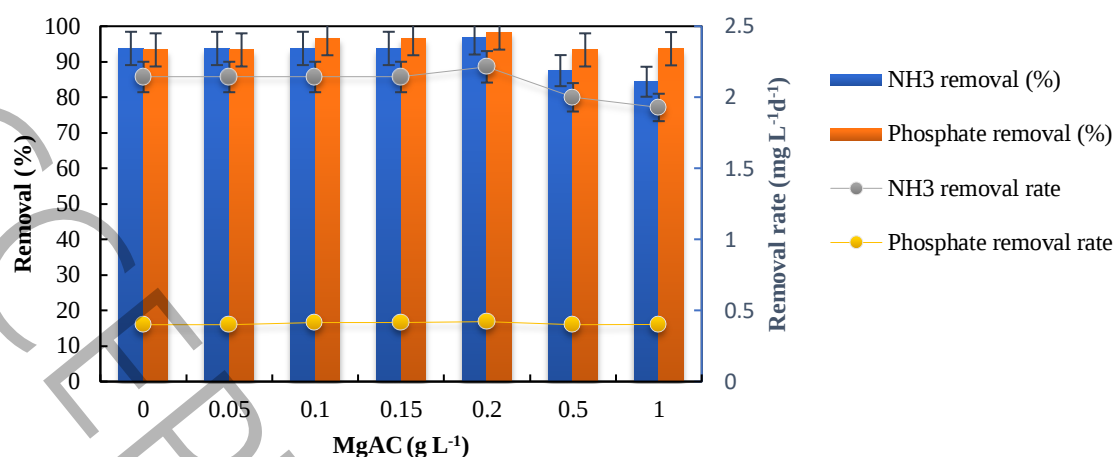
با توجه به راندمان حذف آمونیاک و فسفات توسط ریز جلبک *Chlorella sorokiniana* pa.91 از فاضلاب در مقادیر مختلف نانوماده آمینوکلای منیزیم (شکل ۸)، بالاترین راندمان حذف آمونیاک و فسفات به ترتیب ۹۶/۸۷٪ و ۹۸/۳۳٪ در مقدار ۰/۲ گرم در لیتر نانوماده آمینوکلای منیزیم مشاهده شد. کمترین راندمان حذف آمونیاک و فسفات مقدار ۸۴/۳۷٪ و ۹۳/۶۶٪ در مقدار ۱ گرم در لیتر نانوماده آمینوکلای منیزیم مشاهده شد. همچنین بالاترین نرخ حذف آمونیاک و فسفات به ترتیب ۲/۱۲ و ۰/۴۲ میلی گرم بر لیتر در روز و کمترین نرخ حذف آمونیاک و فسفات به ترتیب ۱/۹۲ و ۰/۴ میلی گرم بر لیتر در روز مشاهده شد.



شکل ۷- حذف مواد مغذی توسط ریز جلبک *Chlorella sorokiniana* pa.91 در مقادیر مختلف نانوماده آمینوکلای منیزیم (الف) آمونیاک، (ب) فسفات

Figure 7- Nutrient removal by the microalgae *Chlorella sorokiniana* pa.91 at different amounts of magnesium aminoclay nanomaterial: a) ammonia, b) phosphate

با توجه به نتایج به دست آمده از حذف مواد مغذی توسط ریز جلبک، همبستگی متناسبی با نمودار رشد ریز جلبک مشاهده شد. با مصرف مواد مغذی موجود در فاضلاب توسط ریز جلبک، رشد ریز جلبک افزایش یافته، در مقدار ۰/۲ گرم بر لیتر همزمان با افزایش نرخ رشد ریز جلبک، راندمان حذف مواد مغذی از فاضلاب افزایش می یابد. حذف مواد مغذی از پساب توسط ریز جلبک *Scenedesmus* sp و *Chlorella* sp به ترتیب ۹۹/۷٪، ۹۸/۲٪ برای نیترات و ۸۰/۵٪، ۷۰٪ درصد برای فسفات گزارش شد [۳۷]. در گزارش دیگری حذف TN و TP به ترتیب معادل ۹۱/۷٪ و ۸۱/۸۲٪ درصد توسط ریز جلبک های کلرلا، کلامیدوموناس و سندسموس مشاهده شد [۳۸]. همچنین در تحقیق دیگری ۸۸٪ و ۴۷/۵٪ درصد راندمان حذف توسط ریز جلبک *D. Salina* به ترتیب برای نیترات و فسفات در شرایط pH معادل ۷/۵ تا ۸/۵، دمای ۲۰ درجه سانتی گراد و شدت تابش ۱۲۰ میکرو مول بر مترمربع بر ثانیه گزارش شد [۳۹]. مطابق شکل ۸، تولید زیست توده ریز جلبک وابستگی شدیدی به آمونیاک محیط کشت دارد و مقدار فسفات محیط کشت تأثیر چندانی بر روی زیست توده تولیدی ندارد. در مجموع جذب مواد مغذی از محیط کشت توسط ریز جلبک در روزهای اول فاز رشد سریع تر است. افزایش تولید زیست توده در فاز رشد و تراکم سلولی بالا موجب کاهش عمق نور در محیط کشت شده و با کاهش توانایی سلول، جذب مواد مغذی با سرعت کمتری انجام می شود.



شکل ۸- حذف مواد مغذی توسط ریزجلبک *Chlorella sorokiniana pa.91* در مقادیر مختلف نانو ماده الف) درصد حذف ب) نرخ حذف

Figure 8- Nutrient removal by the microalgae *Chlorella sorokiniana pa.91* at different amounts of nanomaterial A) Percentage of removal B) Removal rate

۴- نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد ریزجلبک بومی *Chlorella sorokiniana pa.91*، پتانسیل بسیار خوبی را برای تولید غلظت زیست توده بالا و حذف مواد مغذی از فاضلاب تحت تأثیر نانوماده آمینوکی منیزیم دارد. در این تحقیق غلظت های مختلف نانوماده آمینوکی منیزیم بر نرخ رشد ریزجلبک، اندازه سلولی، حذف آمونیاک و فسفات از فاضلاب بررسی شد. با توجه به نتایج به دست آمده، غلظت مناسب نانوماده آمینوکی منیزیم مقدار ۰/۲ گرم در لیتر تعیین شد. میزان نرخ رشد سلولی، اندازه سلولی و حذف آمونیاک و فسفات به ترتیب معادل ۰/۱۸۶ روزانه، ۰/۲۸۵ - ۰/۴۷۵ میکرومتر و ۹۸/۳۳، ۹۶/۸۷ درصد راندمان حذف به دست آمد. این نتایج نشان می دهد، مقادیر کم نانوماده آمینوکی منیزیم با تأثیر مثبت بر روی ریزجلبک بومی *Chlorella sorokiniana pa.91* برای تصفیه بیولوژیکی فاضلاب بسیار مناسب است.

۵- فهرست علائم

TSS	: کل مواد جامد معلق
BOD	: میزان اکسیژن بیولوژیکی مورد نیاز
COD	: میزان اکسیژن شیمیایی مورد نیاز
TN	: کل نیتروژن
TP	: کل فسفر
APTES	: آمینوپروپیل تری اتوکسی سیلان
MgAC	: آمینوکی منیزیم
XRD	: آنالیز طیف سنجی پراش اشعه ایکس
FE-SEM	: میکروسکوپ الکترونی روبشی
CDW	: وزن خشک زیست توده
OD	: چگالی نوری
μ	: سرعت رشد ویژه
T _D	: زمان دو برابر شدن

بازده تولید زیست توده	: P _B
نرخ رشد مخصوص	: SGR
اکسیژن فعال	: ROS
میکروسکوپ نیروی اتمی	: AFM

۵- تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل که زمینه انجام این تحقیق را فراهم کردند سپاسگزاری می‌شود.

۶- اعلام تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ نوع تعارض منافی وجود ندارد.

۷- منابع و مراجع

- [1] D. Kumar, T. Das, B.S. Giri, B. Verma, Preparation and characterization of novel hybrid bio-support material immobilized from *Pseudomonas cepacia* lipase and its application to enhance biodiesel production, *Renewable Energy*, 147 (2020) 11-24.
- [2] P. Yaqoubnejad, H.A. Rad, M. Taghavijeloudar, Development a novel hexagonal airlift flat plate photobioreactor for the improvement of microalgae growth that simultaneously enhance CO₂ bio-fixation and wastewater treatment, *Journal of Environmental Management*, 298 (2021) 113482.
- [3] S. Maryjoseph, B. Ketheesan, Microalgae based wastewater treatment for the removal of emerging contaminants: A review of challenges and opportunities, *Case studies in chemical and environmental engineering*, 2 (2020) 100046.
- [4] M.Y. Alazaiza, S. He, D. Su, S.S. Abu Amr, P.Y. Toh, M.J. Bashir, Sewage water treatment using *Chlorella vulgaris* microalgae for simultaneous nutrient separation and biomass production, *Separations*, 10(4) (2023) 229.
- [5] L.B. Sukla, E. Subudhi, D. Pradhan, *The role of microalgae in wastewater treatment*, Springer, 2019.
- [6] H. Al-Jabri, P. Das, S. Khan, M. Thaher, M. AbdulQuadir, Treatment of wastewaters by microalgae and the potential applications of the produced biomass—a review, *Water*, 13(1) (2020) 27.
- [7] S. Kazemifard, H. Nayeibzadeh, N. Saghatoleslami, E. Safakish, Application of magnetic alumina-ferric oxide nanocatalyst supported by KOH for in-situ transesterification of microalgae cultivated in wastewater medium, *Biomass and Bioenergy*, 129 (2019) 105338.
- [8] C. Urrutia, E. Yañez-Mansilla, D. Jeison, Bioremoval of heavy metals from metal mine tailings water using microalgae biomass, *Algal Research*, 43 (2019) 101659.
- [9] H. Eladel, A.E.-F. Abomohra, M. Battah, S. Mohmmmed, A. Radwan, H. Abdelrahim, Evaluation of *Chlorella sorokiniana* isolated from local municipal wastewater for dual application in nutrient removal and biodiesel production, *Bioprocess and biosystems engineering*, 42 (2019) 425-433.
- [10] B. Gatamaneni Loganathan, V. Orsat, M. Lefsrud, Phycoremediation and valorization of synthetic dairy wastewater using microalgal consortia of *Chlorella variabilis* and *Scenedesmus obliquus*, *Environmental Technology*, 42(20) (2021) 3231-3244.
- [11] D. Zhou, C. Zhang, L. Fu, L. Xu, X. Cui, Q. Li, J.C. Crittenden, Responses of the microalga *Chlorophyta* sp. to bacterial quorum sensing molecules (N-acylhomoserine lactones): aromatic protein-induced self-aggregation, *Environmental Science & Technology*, 51(6) (2017) 3490-3498.
- [12] P. Asadi, H.A. Rad, F. Qaderi, Comparison of *Chlorella vulgaris* and *Chlorella sorokiniana* pa. 91 in post treatment of dairy wastewater treatment plant effluents, *Environmental Science and Pollution Research*, 26 (2019) 29473-29489.

- [13] R.G. Saratale, S.-K. Cho, R.N. Bharagava, A.K. Patel, S. Varjani, S.I. Mulla, D.S. Kim, S.K. Bhatia, L.F.R. Ferreira, H.S. Shin, A critical review on biomass-based sustainable biorefineries using nanobiocatalysts: Opportunities, challenges, and future perspectives, *Bioresource Technology*, 363 (2022) 127926.
- [14] S. Vasistha, A. Khanra, M. Clifford, M.P. Rai, Current advances in microalgae harvesting and lipid extraction processes for improved biodiesel production: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 137 (2021) 110498.
- [15] M.K. Nguyen, J.-Y. Moon, Y.-C. Lee, Loading effects of low doses of magnesium aminoclay on microalgal *Microcystis* sp. KW growth, macromolecule productions, and cell harvesting, *Biomass and Bioenergy*, 139 (2020) 105619.
- [16] J.-Q. Xiong, S. Ru, Q. Zhang, M. Jang, M.B. Kurade, S.-H. Kim, B.-H. Jeon, Insights into the effect of cerium oxide nanoparticle on microalgal degradation of sulfonamides, *Bioresource technology*, 309 (2020) 123452.
- [17] S. Vasistha, A. Khanra, M.P. Rai, Influence of microalgae-ZnO nanoparticle association on sewage wastewater towards efficient nutrient removal and improved biodiesel application: An integrated approach, *Journal of Water Process Engineering*, 39 (2021) 101711.
- [18] P. Asadi, H.A. Rad, F. Qaderi, Lipid and biodiesel production by cultivation isolated strain *Chlorella sorokiniana* pa. 91 and *Chlorella vulgaris* in dairy wastewater treatment plant effluents, *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 18 (2020) 573-585.
- [19] J. Baird, L. Schultz, R. Plummer, D. Armitage, Ö. Bodin, Emergence of collaborative environmental governance: what are the causal mechanisms?, *Environmental management*, 63 (2019) 16-31.
- [20] S. Nayak, I. Khozin-Goldberg, G. Cohen, D. Zilberg, Dietary supplementation with ω 6 LC-PUFA-rich algae modulates zebrafish immune function and improves resistance to streptococcal infection, *Frontiers in immunology*, 9 (2018) 1960.
- [21] M. Nayak, N. Rashid, W.I. Suh, B. Lee, Y.K. Chang, Performance evaluation of different cationic flocculants through pH modulation for efficient harvesting of *Chlorella* sp. HS2 and their impact on water reusability, *Renewable Energy*, 136 (2019) 819-827.
- [22] W. Farooq, H.U. Lee, Y.S. Huh, Y.-C. Lee, *Chlorella vulgaris* cultivation with an additive of magnesium-aminoclay, *Algal Research*, 17 (2016) 211-216.
- [23] S. Kim, J.-e. Park, Y.-B. Cho, S.-J. Hwang, Growth rate, organic carbon and nutrient removal rates of *Chlorella sorokiniana* in autotrophic, heterotrophic and mixotrophic conditions, *Bioresource technology*, 144 (2013) 8-13.
- [24] X. Li, F. Cai, T. Luan, L. Lin, B. Chen, Pyrene metabolites by bacterium enhancing cell division of green alga *Selenastrum capricornutum*, *Science of the Total Environment*, 689 (2019) 287-294.
- [25] L.N. Nguyen, L. Labeeuw, A.S. Commault, B. Emmerton, P.J. Ralph, M.A.H. Johir, W. Guo, H.H. Ngo, L.D. Nghiem, Validation of a cationic polyacrylamide flocculant for the harvesting fresh and seawater microalgal biomass, *Environmental Technology & Innovation*, 16 (2019) 100466.
- [26] V.K.H. Bui, D. Park, Y.-C. Lee, Aminoclays for biological and environmental applications: An updated review, *Chemical Engineering Journal*, 336 (2018) 757-772.
- [27] L. Fu, K.K.R. Datta, K. Spyrou, G. Qi, A. Sardar, M.M. Khader, R. Zboril, E.P. Giannelis, Phyllosilicate nanoclay-based aqueous nanoparticle sorbent for CO₂ capture at ambient conditions, *Applied Materials Today*, 9 (2017) 451-455.
- [28] T.M. Fernandes, B.B. Gomes, U.M. Lanfer-Marquez, Apparent absorption of chlorophyll from spinach in an assay with dogs, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(3) (2007) 426-432.
- [29] H. Begum, F.M. Yusoff, S. Banerjee, H. Khatoun, M. Shariff, Availability and utilization of pigments from microalgae, *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(13) (2016) 2209-2222.
- [30] M.M.H. Alejandra Londono-Calderon, Pierre E. Palo, Lee Bendickson,, M.N.-H. Sandra Vergara, Andrew C. Hillier, and Tanya Prozorov, Londono-Calderon et al. - 2019 - Imaging of Unstained DNA Origami Triangles with Electron Microscopy, *Small Methods*, 1900393 (2019).

- [31] B. Kim, R. Praveenkumar, J. Lee, B. Nam, D.-M. Kim, K. Lee, Y.-C. Lee, Y.-K. Oh, Magnesium aminoclay enhances lipid production of mixotrophic *Chlorella* sp. KR-1 while reducing bacterial populations, *Bioresource Technology*, 219 (2016) 608-613.
- [32] C.M. Hoo, N. Starostin, P. West, M.L. McCartney, A comparison of atomic force microscopy (AFM) and dynamic light scattering (DLS) methods to characterize nanoparticle size distributions, *Journal of Nanoparticle Research*, 10 (2008) 89-96.
- [33] T.O. Ajiboye, O.A. Oyewo, D.C. Onwudiwe, Simultaneous removal of organics and heavy metals from industrial wastewater: A review, *Chemosphere*, 262 (2021) 128379.
- [34] M.K. Nguyen, J.-Y. Moon, V.K.H. Bui, Y.-K. Oh, Y.-C. Lee, Recent advanced applications of nanomaterials in microalgae biorefinery, *Algal Research*, 41 (2019) 101522.
- [35] P. Spolaore, C. Joannis-Cassan, E. Duran, A. Isambert, Commercial applications of microalgae, *Journal of bioscience and bioengineering*, 101(2) (2006) 87-96.
- [36] A.A. Ansari, A.H. Khoja, A. Nawar, M. Qayyum, E. Ali, Wastewater treatment by local microalgae strains for CO₂ sequestration and biofuel production, *Applied Water Science*, 7 (2017) 4151-4158.
- [37] K. Alemu, B. Assefa, D. Kifle, H. Kloos, Nitrogen and phosphorous removal from municipal wastewater using high rate algae ponds, *INAE Letters*, 3 (2018) 21-32.
- [38] Y. Liu, I. Yildiz, The effect of salinity concentration on algal biomass production and nutrient removal from municipal wastewater by *Dunaliella salina*, *International Journal of Energy Research*, 42(9) (2018) 2997-3006.
- [39] H. Doshi, A. Ray, I. Kothari, Biosorption of cadmium by live and dead *Spirulina*: IR spectroscopic, kinetics, and SEM studies, *Current Microbiology*, 54 (2007) 213-218.

The treatment of municipal wastewater by *Chlorella sorokiniana* pa.19 using magnesium-aminoclay nanomaterial

Masoumeh Panbehkar Bisheh^a, Hasan Amini Rad^{b1}

^a Ph.D. Student, Department of Environmental Engineering, Faculty of Civil Engineering, Babol Noshirvani University of Technology, 47148-7313 Babol, Iran.

^b Doctor of Philosophy, Department of Environmental Engineering, Faculty of Civil Engineering, Babol Noshirvani University of Technology, 47148-7313 Babol, Iran.

ABSTRACT

Microalgae as unicellular eukaryotic aquatic microorganisms can be used to treat various types of urban and industrial wastewater. Due to the high cost of synthesis of culture medium on an industrial scale, wastewater is used as a cheap and accessible culture medium. Recent advances in the field of nanoengineering have facilitated the application of nanotechnology in wastewater treatment. Nanomaterials engineering, as a relatively new field, has proposed effective solutions for most technical problems for microalgae biodegradation. This research aimed to experimentally investigate the effect of amino-clay-magnesium nanomaterial on the growth of native microalgae *Chlorella. sorokiniana* pa.19 biomass in the sewage culture medium of Sari city. In this regard, the effect of the concentration of magnesium-amino clay nanomaterial on biomass dry weight, specific growth rate, ammonia, and phosphate removal in an urban sewage culture medium was investigated. X-ray diffraction (XRD) analysis, scanning electron microscopy (FE-SEM) on the nanomaterial, and atomic force microscopy (AFM) analysis was performed on the microalgae. Biomass dry weight values, specific growth rate, ammonia, and phosphate removal efficiency are 16.67, 43.01, 98.33 and 96.87% respectively at 28°C, 2800 lux radiation intensity, and 0.2 grams per liter nano magnesium-amino clay material were observed. At a low concentration of magnesium-amino clay nanomaterial, a quantitative and qualitative increase in the biomass of *Chlorella. sorokiniana* pa.19 microalgae was observed, and at concentrations higher than the optimal dose, it caused a decrease in the growth rate of the species.

KEYWORDS

Microalgae, Wastewater, magnesium-amino clay nanomaterial, XRD, FE-SEM.

¹ Corresponding Author: Email: h.a.rad@nit.ac.ir