

# تصفیه پساب و تولید بیودیزل با استفاده از ریز جلبک به دست آمده از پساب شهری در مقیاس نیمه صنعتی: مطالعه موردی پساب مشهد

محمود اخوان مهدوی\*، رضا قشلاقی

گروه مهندسی شیمی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد

غلامرضا ساقی، ثمانه امینیان توکلی

دفتر تحقیقات و بهره‌وری، شرکت آب و فاضلاب مشهد، مشهد، ایران

**چکیده:** روش لجن فعال در تصفیه پساب روشی پرهزینه است و مشکل‌هایی همچون تولید لجن زیاد، مصرف انرژی بالا، کدورت زیاد در خروجی، و تطبیق نداشتن با شرایط متغیر پساب را دارد. استفاده از پساب شهری برای تولید ریزجلبک و تبدیل آن به فراورده‌های همچون بیودیزل همزمان با تصفیه پساب به کمک ریزجلبک دیدگاه نوینی است که در صنعت تصفیه پساب وارد شده است ولی هنوز به دلیل نبود اطلاعات کافی در مقیاس بزرگ جنبه عملی پیدا نکرده است و فعالیت‌های انجام شده به طور عمده مطالعاتی هستند. به طور ویژه در زمینه تصفیه همزمان پساب و تولید بیودیزل از ریزجلبک به دست آمده در حالت نیمه‌صنعتی، هیچ مطالعه‌ای گزارش نشده است. در این مطالعه، برای اولین بار فرایند همزمان تصفیه پساب شهری و تولید ریزجلبک و تبدیل آن به بیودیزل در مقیاس نیمه صنعتی به حجم ۵۰۰ لیتر مورد بررسی قرار گرفت. هدف از این بررسی از یک سوازیایی پتانسیل روش تصفیه مبتنی بر جلبک برای اصلاح پارامترهای پساب شامل مقدار نیتروژن، فسفات و COD و از سوی دیگر ارزیابی پتانسیل پساب مورد استفاده برای تولید ریزجلبک در مقیاس نیمه صنعتی با استفاده از راکتور زیستی نوری استخر روباز و تبدیل آن به بیودیزل بود. نتیجه‌ها نشان داد که در طی یک فرایند یک هفته‌ای میزان زی توده تولید شده از کشت ریزجلبک در پساب حدود ۱/۲۵ گرم بر لیتر بود که میزان لیپید ریزجلبک حدود ۲۵٪ بود. جدا کردن ریزجلبک با استفاده از روش انعقاد ۸۳٪ راندمان داشت. ریزجلبک خشک شده در طی واکنش ترانس استریفیکاسیون اسیدی مستقیم با درصد تبدیل ۷۶٪ به بیودیزل تبدیل شد که دارای پروفیل اسید چرب مناسب شامل اسیدهای پالمیتیک، اولئیک، و لینولئیک به میزان ۴۹/۵٪ کل مقدار لیپید بود. نتیجه تصفیه همزمان پساب نیز نشان داد که COD حدود ۵۰٪، نیتروژن کل حدود ۲۵٪، و میزان فسفات حدود ۵۰٪ کاهش داشت.

**کلمات کلیدی:** تصفیه پساب؛ ریزجلبک؛ بیودیزل؛ زی توده؛ لیپید.

**KEYWORDS:** Wastewater treatment; Microalgae; Biodiesel; Biomass; Lipid.

## مقدمه

روش معمول تصفیه پساب به روش لجن فعال که هم اکنون در بسیاری از تصفیه خانه‌های پساب استفاده می‌شود نیازمند انجام فرایندهایی است که هزینه تصفیه را بالا می‌برد. تولید زیاد لجن در فرایندهای هوازی تصفیه پساب که باید هر از گاهی به بیرون از تصفیه خانه هدایت و حذف شوند یکی از موارد هزینه بر در عملیات تصفیه پساب است. مصرف انرژی زیاد در هوادهی نیز یکی دیگر از این موردها است که حدود ۴۵٪ تا ۷۵٪ هزینه عملیات تصفیه را شامل می‌شود. رشد جلبک در مرحله جلادهی باعث افزایش کدورت پساب تصفیه شده می‌شود که حذف این کدورت نیازمند استفاده از روش‌های جداسازی مؤثر می‌باشد که هزینه اضافی بر فرایند تحمیل می‌کند. افزون بر این‌ها، روش معمول تصفیه پساب به طور مؤثر نمی‌تواند به تغییرهای فصلی و یا طولانی مدت ترکیب پساب پاسخ دهد. یک فرایند تصفیه ممکن است برای مدتی و یا برای یک شرایط ویژه مؤثر باشد، ولی با تغییر شرایط پساب می‌تواند همراه با کاهش راندمان باشد. به عنوان نمونه می‌توان به کاهش نیافتن میزان مواد مغذی<sup>(۱)</sup> یعنی نیتروژن و فسفر در خروجی تصفیه خانه‌ها به سطوح مورد نظر اشاره نمود که بر اساس ماده ۵ آیین نامه جلوگیری از آلودگی آب (سازمان محیط زیست) میزان مجاز نیترات ۵۰ mg/L و فسفات ۶ mg/L است که در سطح جهانی این میزان به ترتیب حدود ۳۰ mg/L و ۴ mg/L می‌باشد (در کشورهای گوناگون کمی متفاوت است). در این شرایط تخلیه پساب به رودخانه‌ها، آبراه‌ها، دریاچه‌ها و اقیانوس‌ها منجر به خطرهای زیست محیطی و بهداشتی زیادی می‌شود. افزایش این مواد در زیست بوم‌های آبی و دریایی باعث به وجود آمدن پدیده ناخواسته اوتروفیکاسیون<sup>(۲)</sup> می‌شود و مشکل‌های زیست محیطی غیر قابل جبرانی در منابع جهانی آب به وجود می‌آورد، هر چند روش‌های زیستی نوینی برای کاهش نیتروژن به میزان قابل پذیرش برای دفع به منابع آبی پیشنهاد شده است [۱].

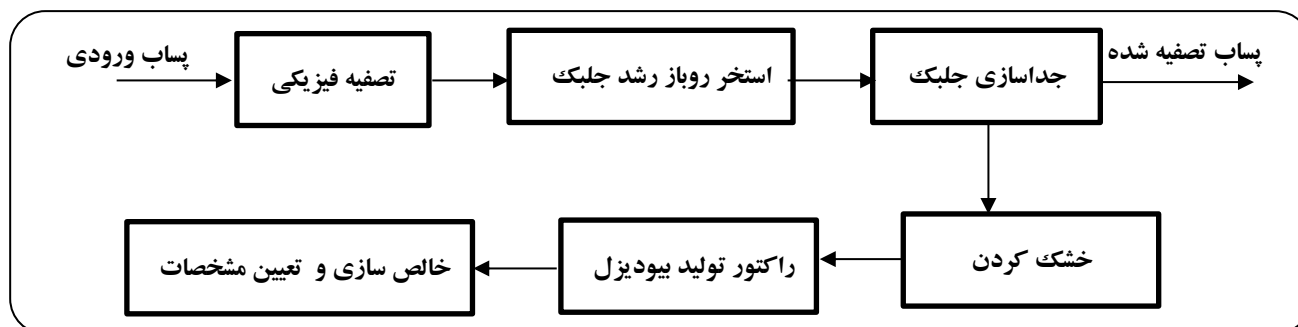
یکی از ایده‌هایی که در سالیان اخیر به‌طور جدی وارد صنعت تصفیه پساب شده استفاده از ریزجلبک‌ها در فرایند تصفیه پساب است. ریزجلبک‌ها گروهی از موجودهای تک سلولی یا چند سلولی ساده با توانایی مصرف CO<sub>2</sub> محیط می‌باشند. عنصرهای مورد نیاز برای رشد ریزجلبک‌ها شامل Ca, Na, K, P, S, N, O, H, C, Mg, Cl می‌باشند. همچنین ریزجلبک‌ها برای رشد نیاز به ریز مغذی‌هایی

مانند Co, Fe, Mn, Cu, Zn دارند. با توجه به فراهم بودن این مواد در پساب زیستی، این محیط برای رشد ریز جلبک مناسب می‌باشد. ریزجلبک‌ها در محیط‌های غنی از مواد غذایی قابلیت رشد دارند و با استفاده از این منابع پروتئین، نوکلئوتیک اسید و مقدار چشمگیری لیپید تولید می‌کنند. لیپید به عنوان ماده اولیه‌ای برای تولید سوخت‌های زیستی از جمله بیودیزل مورد استفاده قرار می‌گیرد. بیودیزل با این‌که از نظر مشخصات سوختی همانند دیزل نفتی است اما در زمره سوخت‌های سبز قرار دارد زیرا دی اکسید کربن تولید شده از سوختن آن دوباره توسط جلبک‌ها در یک سیکل زیست بومی مصرف می‌شود. هر چند تعدادی از گیاهان با دانه‌های روغنی نیز می‌توانند منبع تهیه سوخت‌های زیستی باشند [۲]، ولی ریزجلبک‌ها به دلیل تعدادی از برتری‌ها، از جمله بهره‌وری بالاتر، تولید زی‌توده بیش‌تر و نرخ رشد بالاتر در مقایسه با منبع‌های دیگر، و همچنین به دلیل تکثیر فراوان در مقیاس گسترده و در شرایط آسان، بهتر بودن نوع روغن (لیپید)، و دارا بودن میزان زیاد روغن قابل استخراج، بهترین منبع تهیه بیودیزل هستند [۳]. افزون بر این ریزجلبک‌ها به علت تداخل نداشتن با سایر حوزوها که مهم‌ترین آن حوزه غذا می‌باشد و همچنین استفاده از منابع آبی که برای کشاورزی و شرب مناسب نیستند گزینه مناسبی برای تولید بیودیزل می‌باشند. بنابراین کشت ریزجلبک در پساب دارای منافع دو سوپیه تولید ریزجلبک و تصفیه هم‌زمان پساب می‌باشد.

فرایند هم‌زمان تصفیه پساب و تولید ریزجلبک و تبدیل آن به بیودیزل در شکل ۱ نشان داده شده است. در این شکل تنها مرحله‌های کلی فرایند نشان داده شده است و جزئیات لازم در بخش‌های بعدی توضیح داده شده‌اند. به‌طور کلی پساب شهری پس از ورود به تصفیه خانه و گذراندن یک مرحله تصفیه فیزیکی که شامل گرفتن مواد جامد درشت می‌شود وارد استخر روباز رشد جلبک می‌شود و فرایند رشد آغاز می‌شود. بر اساس میزان پساب ورودی باید تعداد مناسبی از استخرها در نظر گرفته شوند. پس از پایان مرحله رشد، ریز جلبک تولید شده با استفاده از روش مناسب از پساب جداسازی شده و پساب تصفیه شده خارج می‌شود. محلول جلبک غلیظ، خشک شده و سپس برای تولید بیودیزل وارد راکتور می‌شود. بیودیزل تولید شده دارای ناخالصی است که باید یک مرحله تصفیه

(۱) Nutrients

(۲) Eutrophication



شکل ۱- نمودار شمایی فرایند همزمان تصفیه فاضلاب و تولید ریزجلبک و تبدیل آن به بیودیزل

از سوی دیگر با افزایش قیمت انرژی، کاهش منابع‌های انرژی فسیلی و افزایش انتشار گازهای گلخانه‌ای، ضرورت استفاده از انرژی‌های تجدیدپذیر برای جامعه بشری بیش‌تر روشن شده است. بسیاری از دولت‌ها برنامه‌های دراز مدتی برای جایگزینی سوخت‌های فسیلی با سوخت زیستی تنظیم کرده‌اند. وزارت انرژی آمریکا اعلام کرده است که می‌تواند ۱۷٪ نفت وارداتی را با سوخت زیستی جایگزین کند. اتحادیه اروپا می‌خواهد تا سال ۲۰۲۰ میلادی حدود ۲۰٪ انرژی مورد نیاز خود را از سوخت‌های زیستی تأمین کند. شرکت کرین تراست، پیش‌بینی کرده است که تا سال ۲۰۳۰ میلادی سوخت‌های با مبنای ریزجلبک ۷۰ میلیارد لیتر از سوخت‌های فسیلی را جایگزین خواهد کرد. بر این اساس سوخت‌های زیستی وابستگی به سوخت‌های فسیلی را کاهش داده و به عنوان یک منبع انرژی پاک عمل می‌کنند. در کشور ما نیز به دلیل استفاده زیاد از سوخت‌های فسیلی که به بیش از ۱۰۰ میلیون لیتر در روز مصرف گازوئیل می‌رسد و همچنین استاندارد نبودن سوخت‌های فسیلی، و فناوری قدیمی موتورهای اتوموبیل‌ها، آلودگی شدید هوا به ویژه در فصل زمستان تبدیل به مشکلی زیست محیطی شده است. یکی از راه‌های اساسی برای حل همیشگی این مشکل استفاده از سوخت‌های تجدیدپذیر و از جمله بیودیزل است که با در اختیار داشتن مقدارهای عظیم پساب شهری می‌توان با استفاده از فناوری ریز جلبک بخشی از مصرف سوخت را از دیزل نفتی به بیودیزل (دیزل زیستی) تغییر داد. بیودیزل به دلیل محتوای گرگرد صفر به هیچ‌گونه آلودگی گوگردی ندارد. مشتقات گوگرد (SOx) عامل اصلی آلودگی هوا می‌باشند. همچنین به دلیل تجدیدپذیر بودن به مقدار کربن جو نمی‌افزاید. بنابراین انتشار خالص دی اکسید کربن آن‌ها صفر است.

و خالص سازی را پشت سر بگذرانند تا آماده استفاده شود. مشخصه‌های این سوخت زیستی برای استفاده باید معلوم باشد. صرفه اقتصادی کشت جلبک در پساب در منابع مورد بررسی قرار گرفته است [۴]. این فرایند باعث حذف COD<sup>(۱)</sup>، پاتوژن‌ها، نیتروژن و فسفر می‌شود و نسبت به روش معمول لجن فعال به صرفه‌تر است. ریزجلبک با مصرف مواد مغذی و انجام فتوسنتز، اکسیژن لازم برای باکتری‌های هوازی را تأمین می‌کند و هزینه‌های شدیدی را حذف می‌کند. به‌طور تقریبی حذف یک کیلوگرم BOD<sup>(۲)</sup> به روش لجن فعال حدود یک کیلووات برق برای هوادهی لازم دارد، که تولید این میزان برق همراه با تولید حدود یک کیلوگرم CO<sub>۲</sub> می‌باشد. درحالی که حذف یک کیلوگرم BOD توسط اکسیژناسیون فتوسنتزی نه تنها نیاز به مصرف هیچ انرژی ندارد بلکه به اندازه کافی زی توده ریزجلبکی تولید می‌کند تا بتوان بیودیزل و گاز متان لازم برای تولید یک کیلووات برق را به‌دست آورد [۵].

در روش‌های معمول تصفیه از انواع مواد شیمیایی برای کنترل pH، کاهش لجن، حذف رنگ و بو استفاده می‌شود و این مواد باعث تولید پسماندهای جامد سمی می‌شود که سرانجام در مرکزهای دفن زباله دفع می‌شود. در روش استفاده از ریزجلبک، لجن به‌وجود آمده زی توده ریزجلبکی است که از نظر انرژی غنی است و برای تولید بیودیزل و یا محصولات با ارزش دیگر مانند کود استفاده می‌شود. این فناوری از مواد شیمیایی پرهیز می‌کند و با ساده کردن فرایند کاهش چشمگیری در حجم لجن ایجاد می‌کند. با این‌که در کل فرایند تصفیه با ریزجلبک برای تأمین انرژی لازم، مقداری CO<sub>۲</sub> تولید می‌شود ولی ریزجلبک در حال رشد CO<sub>۲</sub> بیش‌تری مصرف می‌کند که باعث می‌شود کل سامانه از نظر موازنه کربن منفی باشد.

(۱) Chemical Oxygen Demand

(۲) Biological Oxygen Demand

توده ۰/۲ گرم بر لیتر بر روز و میزان لیبید حدود ۲۵٪ را نتیجه داد [۱۱]. در مطالعه‌ی دیگر که روی پساب شهری تصفیه شده در مرحله دوم انجام شد، با گونه‌ی غالب *برائونی*<sup>۱</sup>، بهره‌وری زی توده ۰/۳۴ گرم بر لیتر بر روز و میزان لیبید ۱۸٪ به‌دست آمد [۱۲]. کشت همین گونه در فاضلاب صنعتی، بهره‌وری زی توده ۴/۵ میلی‌گرم بر لیتر بر روز را به‌همراه داشت [۱۳]. شایان ذکر است که به دلیل سمیت بیش‌تر پساب صنعتی نسبت به شهری، نرخ تولید لیبید در مقایسه با پساب‌های شهری بسیار اندک است.

در سال ۲۰۱۳ میلادی، امکان سنجی تولید سوخت زیستی و تصفیه همزمان پساب شهری در استخر روباز در مقیاس پایلوت مطالعه شد و گزارش شد که ۱۴٪ وزن خشک بدون خاکستر ریزجلبک را لیبید تشکیل می‌دهد. در این مطالعه از روش هیدروترمال برای تولید سوخت زیستی استفاده شد و میزان بهره‌وری تولید بیودیزل بین ۴۰٪ تا ۵۰٪ وزن خشک بدون خاکستر به‌دست آمد [۱۴]. به منظور مقایسه پتانسیل تولید بیودیزل توسط روغن‌های گیاهی و ریزجلبک مطالعه‌ای صورت گرفت که در آن میزان تولید بیودیزل از دانه‌ی گیاهی سویا ۴۴۶ لیتر بر هکتار بر سال و از ریزجلبک با محتوای لیبید معمول ۳۰٪ و بهره‌وری زی توده ۱۰ گرم بر مترمربع بر روز، ۱۲۰۰۰ لیتر بر هکتار بر سال گزارش شد [۱۵]. این نتیجه‌ها نشانگر توانایی بالای ریزجلبک در تولید سوخت بیودیزل نسبت به سایر منبع‌های روغنی است. نسبت نیتروژن و فسفر به‌عنوان مواد محدود کننده نقش مهمی در تولید بیودیزل پایانی دارد. در مطالعه‌ای مقدار نظری زی توده تولیدی بر اساس میزان فسفر و نیتروژن انواع پساب محاسبه شد و گزارش شد که بیش‌ترین میزان تولید زی توده را پساب تقطیر با نسبت نیتروژن به فسفر ۹ دارد [۱۶].

با این‌که تاکنون مطالعه‌های زیادی بر روی کشت و تولید ریزجلبک در مقیاس‌های آزمایشگاهی و نیمه صنعتی انجام شده است، ولی همه‌ی آن‌ها تا مرحله کشت ریزجلبک ادامه داشته و مطالعه‌های اندکی تا تولید بیودیزل پایانی از ریزجلبک کشت شده در پساب انجام شده است. افزون بر آن، در زمینه تصفیه همزمان پساب و تولید بیودیزل از ریزجلبک به دست آمده، در حالت نیمه‌صنعتی به تقریب هیچ مطالعه‌ای گزارش نشده است و مقاله‌های منتشر شده در مقیاس‌های آزمایشگاهی هستند.

تاکنون پژوهش‌های دامنه دار زیادی بر روی استفاده از ریزجلبک برای تصفیه پساب انجام شده است. اولین تلاش برای رشد ریزجلبک در پساب در سال ۱۹۹۰ میلادی گزارش شد [۶]. در این فناوری چهار مرحله‌ای با عنوان AIWPS<sup>۱</sup> با رشد ریزجلبک در مرحله دوم تصفیه مقدارهای چشمگیری اکسیژن با فتوسنتز تولید می‌شود که به مصرف باکتری‌ها برای اکسیداسیون مواد آلی و کاهش BOD باقیمانده از مرحله اول تصفیه می‌رسد. در این مرحله از استخرهای با نرخ بالا<sup>۲</sup> استفاده شد که برتری‌های زیادی از جمله زمان اقامت کم داشت. در نسل دوم این فناوری، برای رشد کنترل شده ریزجلبک از چرخ‌های پارویی در استخرهای با سرعت بالا استفاده شد. استفاده از این فناوری برتری‌هایی در تصفیه پساب به‌وجود آورد: افزایش سرعت در حذف مواد غذایی، حذف مواد زائد به دست آمده از فرایند تصفیه، حذف مواد شیمیایی، و تولید مقدار زیادی زی توده جلبکی که قابلیت استفاده در صنایع گوناگون را داشت. در زمانی که این فناوری عرضه شد برای ریزجلبک تولید شده استفاده‌ای وجود نداشت و در مرحله سوم، ریزجلبک در استخرهای ته‌نشینی از پساب تصفیه شده جدا شده و هر از چندگاه از کف استخر جمع‌آوری می‌شد. ولی بعدها از ریزجلبک به دست آمده برای تولید سوخت زیستی بهره‌گرفته شد و پژوهش‌ها در زمینه ریزجلبک به سمت رشد ریزجلبک در فاضلاب، با محتوای لیبید مناسب برای تولید بیودیزل ادامه یافت. در این پژوهش‌ها جنبه‌های گوناگون رشد ریزجلبک و فرایندهای بعدی آن تا تولید بیودیزل مورد بررسی قرار گرفت.

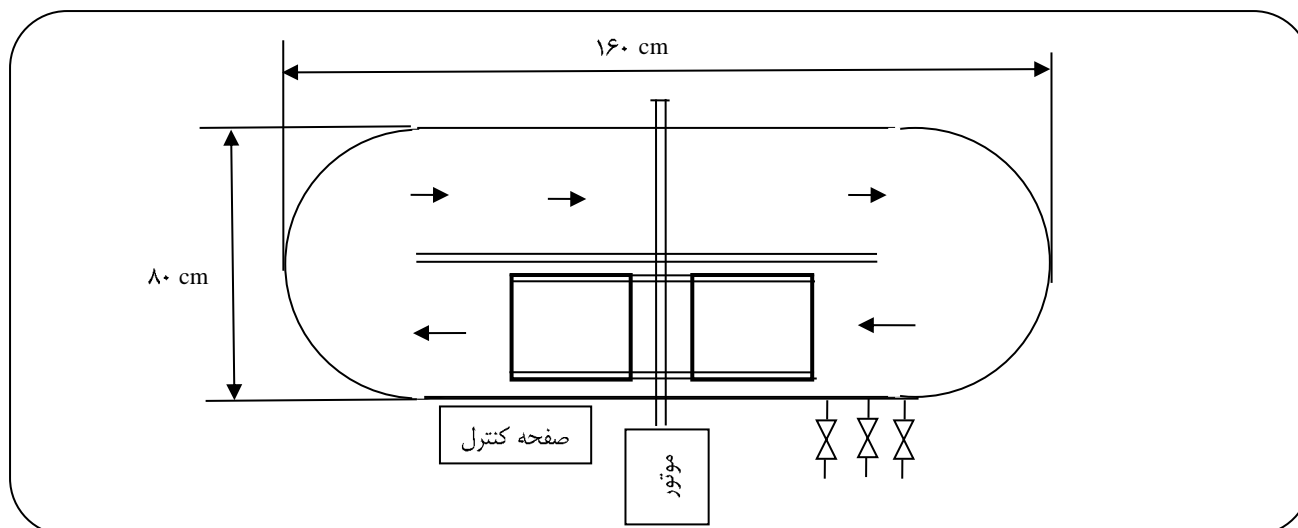
در یکی از مطالعات اولیه‌ای که در سال ۲۰۰۷ میلادی انجام شد، بهره‌وری زی توده ریزجلبک در دو سامانه استخرهای روباز<sup>۳</sup> و راکتور زیستی نوری با سامانه بسته به ترتیب ۰/۱۱۷ و ۱/۵۳۵ گرم بر لیتر بر روز بدست آمد [۷]. با افزودن CO<sub>2</sub> به پساب، بهره‌وری زی توده ۳۰٪ افزایش یافت و محتوای لیبید نیز از ۳۰٪ به ۴۰٪ رسید [۸]. رشد گونه‌های گوناگون جلبکی نیز در پساب مورد بررسی قرار گرفت. بررسی‌ها نشان داد که در پساب شهری گونه‌های کلرلا و سندسموس به شرایط محیطی پساب مقاوم هستند و بیش‌تر از گونه‌های دیگر می‌توانند نیتروژن و فسفر را حذف نمایند [۹]. بهره‌وری تولید زی توده در این دو گونه به ترتیب حدود ۲ و ۰/۷۴ گرم بر لیتر بر روز گزارش شد [۱۰]. در مقیاس آزمایشگاهی، کشت ریزجلبک گونه‌ی *راین‌هارتی*<sup>۴</sup> در پساب شهری، بهره‌وری زی

(۱) Advanced Integrated Wastewater Pond Systems

(۲) High Rate Algal Pond

(۳) Open Pond

(۴) *Chlamydomonas reinhardtii*(۵) *Botryococcus braunii*



شکل ۲- طرح شمایی استخر روباز کشت جلبک

بافت یک بار دیگر فیلتر شد و مواد اضافی حذف شد. پارامترهای پساب تازه اندازه گیری و ثبت شد. برای جلوگیری از تغییرهای پارامترهای پساب، کشت جلبک بی‌درنگ شروع شد.

#### تهیه مایه تلقیح

به‌طور کلی برای تهیه هر محلول زیستی نیاز به مایه تلقیح است. این مایه از همان میکروارگانیسمی تهیه می‌شود که قرار است تکثیر شود و حدود ۱۰-۵٪ حجم نهایی راکتور را شامل می‌شود. به دلیل حجم زیاد مواد فرآیندی، تهیه مایه تلقیح در چند مرحله انجام شد و در همه مرحله‌ها از محیط کشت سنتزی استفاده شد. نخست کشت ریزجلبک جدا شده از پساب و رشد کرده روی سطح آگار در درون لوله های کوچک انجام شد. سپس ریزجلبک مورد نظر در حجم ۰/۵ لیتر در محیط کشت BG11 در محیط مایع تهیه شد. این مرحله در درون ظرف‌های آزمایشگاهی و در درون انکوباتور یخچال‌دار در دمای ثابت ۲۵ درجه سلسیوس انجام گرفت و مدت زمان رشد سه روز بود. این محلول برای تلقیح محیط کشت BG11 در حجم ۵ لیتر مورد استفاده قرار گرفت که این مرحله نیز در ظرف‌های آزمایشگاهی و در درون انکوباتور و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انجام شد. مدت زمان تهیه این محلول نیز سه روز بود. در مرحله بعد، محلول ۵ لیتری برای تلقیح فتوبیوراکتور صفحه تخت<sup>۱</sup> ۵۰ لیتری مورد استفاده قرار گرفت، به این ترتیب که ۴۵ لیتر محلول محیط کشت BG11 تهیه شد و ۵ لیتر مایه تلقیح به آن

در این مطالعه، برای اولین بار تولید بیودیزل از پساب شهر مشهد در مقیاس نیمه صنعتی ۵۰۰ لیتر بررسی شد. افزایش مقیاس فرایند کشت ریزجلبک در پساب و تصفیه هم‌زمان، به طور معمول با تغییرهایی نسبت به نتیجه‌های آزمایشگاهی همراه است که یکی از هدف‌های این مطالعه بررسی این تغییرها می‌باشد. بر اساس نتیجه‌های آزمایشگاهی، این فرایند به چهار بخش اصلی تقسیم شد. بخش اول تهیه مایه تلقیح بود که از ریزجلبک جدا شده از پساب تهیه شد. در بخش دوم مایه تلقیح در راکتور زیستی نوری ۵۰۰ لیتری به پساب خام افزوده شد و هم‌زمان با تصفیه پساب، ریز جلبک نیز تولید شد. در مرحله سوم ریزجلبک تولید شده از پساب جدا و خشک شد. در مرحله پایانی، از جلبک خشک بیودیزل تولید شد. نتیجه‌های به دست آمده از این چهار مرحله گزارش و بررسی شده است و با نتیجه‌های به‌دست آمده از مطالعه‌های همانند مقایسه شد.

#### بخش تجربی

##### پساب

پساب مورد استفاده در این پژوهش پساب ورودی به تصفیه خانه پرکن‌آباد ۱ مشهد بود. نمونه پساب پس از عبور از صافی‌های دانه‌گیر و جدا کردن مواد جامد درشت و پیش از ورود به حوضچه ته‌نشینی اولیه برداشت شد و به آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده مهندسی دانشگاه فردوسی مشهد منتقل شد. نخست توسط یک پارچه ریز

(۱) Flat-Plate Photobioreactor

جدول ۱- ویژگی‌های فنی راکتور زیستی نوری استخر روباز.

شدت نور (لوکس)	منبع نور	سرعت چرخش چرخ پارویی (دور بر دقیقه)	متوسط طول مسیر حرکت (متر)	عمق کاری (سانتیمتر)	حجم کاری (لیتر)
۰ تا ۱۱۰۰۰	LED	۰ تا ۱۰	۳/۳	۳۳	۵۰۰

۹۰۰۰ لوکس تنظیم شده بود. شدت نور در سطح مایع در وضعیت عمود بر جهت تابش نور اندازه گیری شد. نمونه برداری به صورت روزانه انجام گرفت و روی هر نمونه آنالیزهای مربوط انجام شد.

### خشک کردن ریز جلبک

پس از جداسازی ریزجلبک از پساب، زیست توده به دست آمده باید خشک شود تا برای مرحله استخراج لیپید و تولید بیودیزل مورد استفاده قرار گیرد. وجود آب در فرایند استخراج لیپید باعث هیدرولیز اسیدهای چرب می‌شود و از متیله شدن آن‌ها جلوگیری می‌کند. در این آزمایش محلول غلیظ ریزجلبک حاصل از جداسازی، در آن با دمای ۴۵ درجه سلسیوس قرار داده شد و خشک شدن کامل آن سه روز به طول انجامید. شایان ذکر است که در آن به دلیل فضای کم، ضخامت لایه سلولی زیاد است و بنابراین خشک شدن زمان بیشتری طول می‌کشد.

### تعیین میزان زی توده خشک

برای اندازه گیری میزان زی توده، حجم معینی از سوسپانسیون ریزجلبک در فالکن های ۱۵ میلی لیتری به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۴۳۰۰rpm سانتریفوژ شد. زی توده به دست آمده با مقدار کمی آب مقطر به درون یک ظرف آلومینیومی از پیش وزن شده انتقال داده شد. سپس درون آن با دمای ۴۵°C تا ثابت شدن وزن آن (بسته به حجم نمونه بین ۲ تا ۲۴ ساعت) قرار گرفت. اختلاف بین وزن ظرف حاوی نمونه و ظرف خالی مقدار زی توده خشک به ازای حجم اولیه بود.

### تعیین محتوای لیپید

برای استخراج و تعیین محتوای لیپید از روش Bligh & Dyer اصلاح شده استفاده شد [۱۷]. به طور خلاصه، استخراج لیپید با توزین ۱۰ میلی گرم از زی توده خشک و افزودن کردن ۱ میلی لیتر از محلول کلروفرم: متانول به نسبت حجمی (۵: ۴) به آن در یک لوله شیشه‌ای حاوی گلوله های شیشه ای، انجام شد. محتویات لوله شیشه‌ای

افزوده شد. محلول ۵۰ لیتری به دست آمده برای تلقیح ۵۰۰ لیتر از پساب مورد استفاده قرار گرفت. در همه مرحله‌های کشت ریز جلبک، از LED سفید رنگ به عنوان منبع انرژی نورانی با سیکل روشنایی- تاریکی ۱۶-۸ استفاده شد.

### تولید ریز جلبک از فاضلاب

برای تولید ریز جلبک در فاضلاب از یک استخر روباز<sup>۱</sup> ۵۰۰ لیتری استفاده شد. این استخر مجهز به یک همزن چرخ پارویی با قابلیت تنظیم سرعت چرخش است که افزون بر اختلاط مایع، کار پیش بردن مایع را نیز انجام می‌دهد. شکل ۲ طرح شمایی این استخر را نشان می‌دهد. این سامانه به یک صفحه کنترل مجهز است که سرعت و جهت چرخش چرخ پارویی را از طریق یک اینورتر و همچنین شدت نور تاییده شده را با استفاده از دیمر تنظیم می‌کند. همچنین سه شیر خروجی روی بدنه آن در ارتفاع‌های گوناگون قرار دارد که پس از پایان کشت و ته نشینی جلبک، فاضلاب تصفیه شده به آرامی از روی محلول غلیظ جلبک تخلیه می‌شود. از برتری‌های این راکتور هزینه‌ی پایین ساخت و سادگی آن است که صرفه اقتصادی طرح را توجیه می‌کند و از مهم‌ترین عیب‌های آن نبود کنترل مناسب شرایط می‌باشد. مشخصات فنی استخر روباز در جدول ۱ داده شده است.

پساب برداشت شده از ورودی تصفیه خانه، پس از صاف کردن و گرفتن مواد زاید به حجم ۴۵۰ لیتر داخل استخر روباز ریخته شد و ۵۰ لیتر مایه تلقیح از مرحله پیش به آن افزوده شد. برای تأمین منبع کربن از بی‌کربنات سدیم استفاده شد که به صورت نیمه پیوسته<sup>۲</sup> به مایع افزوده شد. مقدار ۲ کیلوگرم بیکربنات سدیم در طول پنج روز و روزانه ۴۰۰ گرم به مایع افزوده شد. با مخلوط کردن پساب و مایه تلقیح فرآیند تکثیر ریزجلبک آغاز شد و به صورت ناپیوسته و به مدت ۱۰ روز ادامه یافت. دمای محیط کشت در این آزمایش‌ها کنترل نشد تا مطابق شرایط واقعی در مقیاس بزرگ باشد و در محدوده ۲۰ درجه سلسیوس قرار داشت. در این سری آزمایش‌ها سرعت چرخش چرخ پارویی ۷ دور بر دقیقه بود و شدت نور بر روی

(۱) Open Pond Raceway

(۳) Fed-batch

(۲) Paddlewheel

جدول ۲- پروتکل های مورد استفاده در تعیین پارامترهای پساب.

پارامتر مورد اندازه گیری	پروتکل اندازه گیری
فسفر کل (بر حسب فسفات)	۴۵۰۰-PB
نیترات	۴۵۰۰-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
COD	۵۲۲۰ D
نیتروژن کج‌دال (TKN)	۴۵۰۰-N

Agilent 5975 C استفاده شد. دستگاه مورد استفاده مجهز به ستون موبینه (۳۰mm × ۰/۲۵mm × ۰/۲۵mm) و با فاز ثابت HP-5 و گاز حامل آن هلیوم با شدت جریان ۱ mL/min بود.

### پارامترهای فاضلاب

برای تعیین میزان نیترات، فسفات، COD و نیتروژن کج‌دال از روش‌های استاندارد استفاده شد [۱۹]. پروتکل‌های مربوط به هر پارامتر در جدول ۲ مشخص شده است. برای تعیین نیتروژن کج‌دال، آنالیز در سه مرحله شامل هضم، تقطیر، و تیتراسیون انجام می‌شود. در مرحله هضم از سولفوریک اسید غلیظ در دمای ۳۰۰ °C استفاده می‌شود که نمونه رنگ سبز مایل به ابی پیدا می‌کند. در مرحله تقطیر محلول هضم شده با آب مقطر رقیق شده و به آن هیدروکسید سدیم افزوده می‌شود. در این لحظه آمونیاک آزاد می‌شود و در حضور بوریک اسید، بورات آمونیوم به دست می‌آید که با تقطیر جداسازی می‌شود. سپس با تیتراسیون با کمک سولفوریک اسید و تغییر رنگ دیده شده حجم اسید اندازه‌گیری شده و میزان نیتروژن بر اساس روابط موجود محاسبه می‌شود.

### مواد شیمیایی

همه مواد شیمیایی مورد استفاده در بخش‌های آنالیز یعنی تعیین محتوای لیپید، واکنش ترانس استریفیکاسیون، و تعیین پروفیل اسید چرب از درجه آزمایشگاهی بوده و از شرکت مرک خریداری شدند.

### نتیجه‌ها و بحث

#### ویژگی‌های پساب ورودی

پساب مورد نیاز برای این پژوهش دارای ویژگی‌های اولیه به این شرح بود: فسفات ۸/۵ mg/L، نیتروژن کل ۱۳۳/۲ mg/L، نیتروژن کج‌دال (TKN) ۱۲۹ mg/L، نیترات ۴/۲ mg/L و مقدار

هشت بار به مدت ۶۰ ثانیه و فاصله زمانی ۱۲۰ ثانیه هم‌زده شد. به لوله شیشه‌ای ۱ میلی‌لیتر دیگر از محلول کلروفورم:متانول (۵ : ۴) افزوده شد و محتویات آن به مدت ۵ ثانیه هم‌زده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام مجهز به امواج فراصوت قرار گرفت. مرحله استخراج با تهیه یک محلول شامل بافر تریس (۵۰ میلی مولار) و سدیم کلرید (۱ مولار) و افزودن ۲/۵ میلی لیتر از این محلول (pH معادل ۱۰/۲) به محتویات لوله شیشه‌ای ادامه یافت. محتویات لوله دوباره به مدت ۵ ثانیه هم‌زده و ۱۰ دقیقه تحت امواج فراصوت قرار گرفت و به مدت ۱۰ دقیقه و با دور ۴۳۰۰ rpm ساترنفیوژ شد. به کمک پیپت فاز پایین که شامل کلروفورم و لیپید بود به لوله نیتروژن دهی منتقل شد. به محتویات باقیمانده لوله شیشه‌ای، ۱ میلی لیتر کلروفورم افزوده شد و مانند مرحله پیش فاز پایین دوباره به لوله نیتروژن دهی منتقل شد. افزودن کلروفورم به نمونه یک بار دیگر تکرار شد و سرانجام محتویات لوله، برای تیخیر کلروفورم نیتروژن دهی شد. پس از خارج شدن کامل کلروفورم، مقدار لیپید به دست آمده توزین شد. محتوای لیپید، وزن لیپید به دست آمده به وزن زی توده خشک اولیه است.

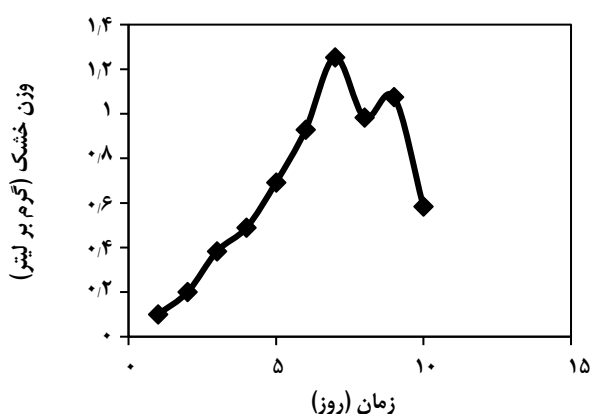
### تولید بیودیزل

برای تولید بیودیزل از واکنش ترانس استریفیکاسیون مستقیم اسیدی استفاده شد [۱۸]. در این روش به ازای ۱۰۰ گرم جلبک خشک، ۷۸۰ میلی لیتر متانول، ۵۳ میلی لیتر سولفوریک اسید، و ۱۲۰۰ میلی لیتر هگزان به راکتور ترانس استریفیکاسیون افزوده شد. محتویات راکتور به مدت ۳۵ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس با سرعت ۱۰۰ دور بر دقیقه هم‌زده شد. پس از پایان واکنش به حجم مساوی از هگزان، آب مقطر به مخلوط واکنش افزوده شد. افزودن آب باعث دو فاز شدن محیط شد به طوری که فاز پایین شامل آب، متانول واکنش ن داده و کاتالیست اسیدی بود و در فاز بالا بیودیزل (اسید چرب متیل استر) حل شده در هگزان وجود داشت. با جدا کردن فاز بالا، محلول بدست آمده چند مرحله با آب شستشو شد تا اسیدهای چرب آزاد متیله نشده با آب هیدرولیز شده و به صابون تبدیل شوند. محلول پایانی وارد دستگاه تقطیر شد تا هگزان از بیودیزل جداسازی و بازیابی شود.

### تعیین پروفیل اسید چرب

به منظور تعیین درصد اسیدهای چرب متیل استر<sup>۱</sup> در فراورده واکنش ترانس استریفیکاسیون، از دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 7890A و مجهز به آشکارساز طیف سنجی جرمی از نوع

(۱) Fatty Acid Methyl Esters (FAME)



شکل ۳- نمودار تغییرهای وزن خشک در طول رشد ریزجلیک در پساب استخر روباز.

### پارامترهای پساب

یکی از برتری‌های استفاده از پساب برای کشت جلبک تصفیه هم‌زمان پساب است. پارامترهای پساب در طی زمان کشت به مدت ۱۰ روز مورد بررسی قرار گرفت. در طول این مدت، ویژگی‌های پساب شامل COD، نیترات و نیتروژن کل، فسفات با دقت تحت نظارت قرار گرفت و در فاصله‌های زمانی مناسب مقادیرهای آن‌ها با روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد که در ادامه به تفصیل به نتیجه‌های به‌دست آمده اشاره می‌شود.

### تغییر COD

روش‌های معمول تصفیه مانند لجن فعال در حوضچه‌های هوادهی COD پساب را کاهش می‌دهند که در این فرایند با رساندن اکسیژن کافی به باکتری‌های هوازی، مواد آلی پساب مصرف شده و COD کاهش می‌یابد. در فرایند رشد ریزجلیک در پساب در صورتی که رشد به صورت اتوتروف باشد منبع کربن غیر آلی (در این جا بی‌کربنات) توسط جلبک مصرف می‌شود و به کربوهیدرات تبدیل می‌شود. بنابراین از نظر تئوری محتوای آلی پساب توسط جلبک اتوتروف دست نخورده باقی می‌ماند. جلبک‌های هتروتروف می‌توانند از محتوای کربن فاضلاب استفاده کرده و رشد کنند. به دلیل این که جامعه جلبکی موجود در پساب ترکیبی از ریزجلیک‌های اتوتروف و هتروتروف است (میکسوتروف) بنابراین مصرف کربن و کاهش COD دیده می‌شود. از طرفی اکسیژن تولید شده توسط ریزجلیک‌ها توسط باکتری‌های موجود در پساب مصرف می‌شود. بنابراین عامل‌های متفاوت باعث کاهش محتوای آلی و COD می‌شود چنانکه در نتیجه‌های آزمایشگاهی نیز دیده شد.

COD ورودی برابر با  $664 \text{ mg/L}$  برای تعیین بهترین محل برداشت نمونه، در یک پژوهش جداگانه آزمایش‌هایی انجام شد و نمونه‌هایی از سه محل شامل: ورودی حوضچه هوادهی (ورودی تصفیه خانه پس از دانه گیری)، خروجی حوضچه هوادهی، و خروجی حوضچه ته نشینی (فاضلاب تصفیه شده)، گرفته شد. کشت جلبک در هر سه نمونه در راکتورهای زیستی نوری یکسان و با شرایط عملیاتی یکسان انجام گرفت: حجم راکتور  $2/5$  لیتر، هوادهی  $7 \text{ vvm}$  با  $6\%$  حجمی از  $\text{CO}_2$ ، بیکربنات سدیم  $4 \text{ g/L}$ ، شدت نور  $6000$  لوکس با سیکل  $16$  ساعت روشنایی و  $8$  ساعت تاریکی. همچنین نمونه گیری در ماه‌های تیر، شهریور، آبان، آذر و بهمن انجام شد. در همه آزمایش‌های انجام شده با هر سه نمونه و در همه ماه‌ها، پساب برداشت شده از ورودی حوضچه هوادهی بهترین میزان رشد جلبک را داشت و به حدود  $1/17 \text{ g/L}$  رسید. درحالی‌که رشد جلبک در پساب برداشت شده از خروجی حوضچه هوادهی به حدود  $0/93 \text{ g/L}$  و در نمونه خروجی از حوضچه ته نشینی به  $0/43 \text{ g/L}$  رسید. بر این اساس نمونه پساب برای این پژوهش از ورودی تصفیه خانه برداشت شد.

### رشد ریز جلبک

شکل ۳ تغییرهای وزن خشک سلولی را در طول زمان رشد نشان می‌دهد. غلظت زی توده در طول رشد و در روز هفتم به بیش‌ترین مقدار خود یعنی  $1/25 \text{ g/L}$  رسید و پس از آن به تدریج رو به کاهش گذاشت به طوری که در روز دهم به  $0/59 \text{ g/L}$  رسید. بنابراین مناسب‌ترین زمان برای طول کشت حدود یک هفته است. در این آزمایش با توجه به اینکه زمان کشت ده روز طول کشید مقدار وزن خشک تتوری به‌دست آمده  $236$  گرم بود که از حدود  $400$  لیتر محلول باقیمانده به‌دست آمد (میزان تبخیر آب  $100$  لیتر بود).

### جمع آوری ریز جلبک

با این که روش‌های متعددی برای جداسازی ریزجلیک از محیط آبی مانند روش انعقاد الکتریکی [۲۰] پیشنهاد شده است، ولی روش انعقاد شیمیایی در مقیاس‌های بالا به دلیل هزینه‌های پایین دارای ارجحیت می‌باشد. در طول فرایند انعقاد، کف زیادی روی سطح جمع شد که با گذشت چند ساعت کف کاملاً فرو نشست و سطح مایع صاف شد درحالی‌که بخش بزرگی از محتوای جلبک فاضلاب منعقد و ته نشین شد. میزان زی توده در پساب تصفیه شده معادل  $0/1$  گرم بر لیتر بود. به این ترتیب روش انعقاد توانست حدود  $83\%$  از ریزجلیک موجود در محلول به دست آمده از کشت را جمع آوری کند.



جدول ۳- تغییر میزان COD پساب در طول رشد جلبک در استخر روباز.

زمان (روز)	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
COD (میلی گرم بر لیتر)	۶۶۴	۶۹۲	۵۶۰	۴۸۶	۶۸۲	۶۲۳	۴۳۵	۵۱۳	۵۰۲	۳۳۸

شکلی از نیتروژن که توسط ریزجلبک مصرف می‌شود نیتروژن غیر آلی نیترات است که ریزجلبک آن را به مصرف سنتز ماکرومولکول‌ها مانند پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها می‌رساند و نیتروژن آلی به طور معمول توسط ریزجلبک مصرف نمی‌شود.

اطلاعات به دست آمده در شکل ۴ نشان داد که در طی فرایند رشد ریزجلبک، نیتروژن کج‌دلال تغییر نامنظمی داشت و در برخی روزها تا حدود نصف کاهش یافت ولی به تدریج افزایش یافت. میزان نیترات به دلیل کم بودن تغییر چندانی نداشت و در برخی روزها بیش‌تر از مقدار اولیه بود. در مجموع مقدار نیتروژن کل حدود ۲۵٪ کاهش یافت.

پساب در هنگام ورود به تصفیه خانه دارای آمونیم بالا و نیترات کم است. به دلیل این که نمونه برداری برای این پژوهش از ورودی تصفیه خانه بود بنابراین نمونه نیز دارای نیترات کم بود (۴/۲ mg/L). به دلیل هوادهی در استخر روباز که به کمک چرخ پارویی انجام می‌شود باکتری‌های نیتریفایر موجود در محیط آمونیم را به نیترات تبدیل می‌کنند اما ریزجلبک‌ها آن را به عنوان منبع نیتروژن مصرف نموده و رشد می‌کنند. بنابراین تغییر زیادی در محتوای نیترات دیده نمی‌شود. می‌توان گفت که ریزجلبک‌ها جایگزین باکتری‌های دنیتریفایر شده اند که در شرایط هوازی قادر به فعالیت نیستند. شکل ۴ نشان می‌دهد که تغییر نیتروژن کل روند ثابتی ندارد و همچنین درصد حذف در پایان ۱۰ روز کم است. دقت در نتیجه‌ها نشان می‌دهد که بخش عمده‌ای از نیتروژن کل مربوط به نیتروژن کج‌دلال است که آن هم به دلیل اکسیداسیون آمونیم به نیترات، به طور عمده مربوط به نیتروژن آلی است که توسط ریزجلبک مصرف نمی‌شود. تنها بخش کمی از نیتروژن آلی به دلیل هیدرولیز به آمونیم تبدیل می‌شود که بعداً به نیترات تبدیل شده و مصرف می‌شود. بنابراین علت تغییر کم نیتروژن کل مربوط به محتوای نیتروژن آلی است که در طی فرایند رشد جلبک تقریباً دست نخورده باقی می‌ماند.

#### تغییر فسفات

محتوای فسفات پساب در طی فرایند رشد جلبک کاهش چشم‌گیری می‌یابد. سلول‌های ریزجلبک برای ساخت ماکرومولکول‌ها از فسفات موجود در محیط استفاده می‌کنند که باعث کاهش مقدار آن می‌شود.

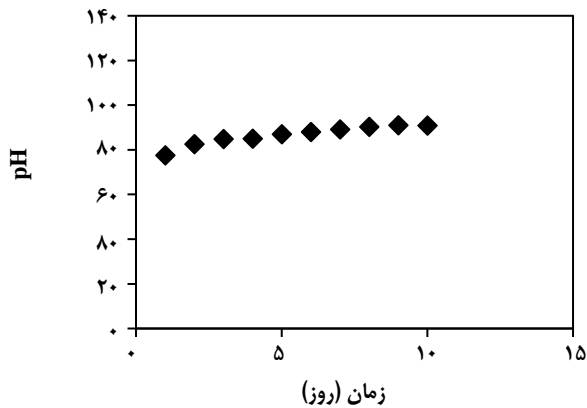
نتیجه‌های کشت ریزجلبک در استخر روباز نشان داد که این کاهش حدود ۵۰٪ است به طوری که مقدار آن از ۶۶۴ میلی گرم بر لیتر در روز اول به ۳۳۸ میلی گرم بر لیتر در روز دهم کاهش یافت. جدول ۳ تغییرهای این پارامتر را در طول مدت رشد ریزجلبک نشان می‌دهد. نگاهی به مقادیر جدول ۳ نشان می‌دهد که نوسان‌های زیادی در مقدار COD وجود دارد. بخشی از این نوسان‌ها در پنج روز اول ادامه داشت. به همین دلیل مقدار COD در پنج الی شش روز اول در بازه‌ی ۶۶۰ تا ۶۲۰ بود. از روز هفتم مقدار این پارامتر رو به کاهش گذاشت و در بازه‌ی ۴۵۰ تا ۵۰۰ بود و در روز دهم کاهش شدید داشت. افزایش COD در روزهای آغازین کشت، در مطالعه‌های همانند نیز دیده شده است [۲۱] و می‌تواند نتیجه آزاد شدن مواد آلی توسط باکتری‌های موجود در محیط کشت به دلیل استفاده از متابولیسم داخلی باشد. این متابولیسم وقتی فعال می‌شود که باکتری‌ها در شرایط کمبود مواد غذایی قرار گیرند. ولی به نظر می‌رسد دلیل افزایش COD در این مطالعه افزودن سدیم بی‌کربنات به محیط در طول روزهای اول تا پنجم باشد. در روزهای پایانی که بی‌کربنات به طور کامل مصرف شد، افت شدید COD دیده شد.

#### تغییر نیترات و نیتروژن کل

یکی دیگر از پارامترهای تصفیه که همزمان با رشد جلبک بهبود می‌یابد میزان نیترات و نیتروژن کل است. این پارامتر در رشد ریزجلبک از اهمیت زیادی برخوردار است زیرا محتوای لیپید در جلبک در شرایط کمبود نیتروژن افزایش می‌یابد درحالی که تولید زی توده به منبع نیتروژن وابسته است و با افزایش نیتروژن، رشد سلولی بیش‌تر می‌شود. شکل ۴ تغییر غلظت نیترات، نیتروژن کج‌دلال (TKN) و نیتروژن کل در طول فرایند رشد ریزجلبک در پساب در مقیاس نیمه صنعتی را نشان می‌دهد. همان‌گونه که در شکل دیده می‌شود، بخش عمده نیتروژن در پساب مربوط به نیتروژن کج‌دلال است که مجموع نیتروژن آمونیاکی و آلی است و میزان نیترات در مقایسه بسیار کم‌تر است. نیتروژن آمونیاکی به صورت آمونیاک/یون آمونیم است که از هیدرولیز نیتروژن آلی تولید می‌شود و نیتروژن آلی نیز به طور معمول مربوط به آمینواسیدها، پپتیدها، پروتئین‌ها، و اوره است که در پساب فراوان است.

جدول ۴- تغییرات میزان فسفات فاضلاب در طول رشد جلبک در استخر روباز

زمان (روز)	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
فسفات (میلی گرم بر لیتر)	۶/۷۰	۸/۵۰	۲/۰۰	۳/۵۰	۵/۰۰	۵/۰۲	۴/۵۱	۳/۵۰	۵/۰۳	۳/۶۳

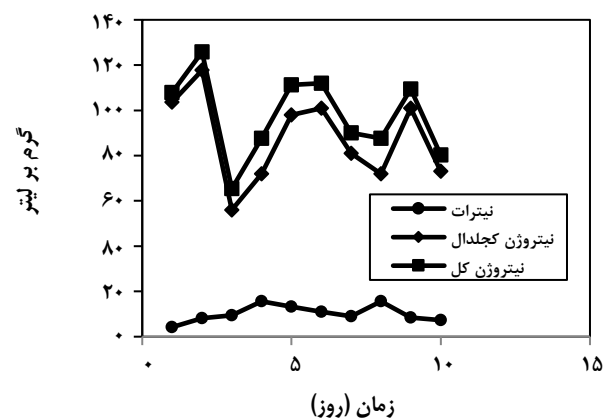


شکل ۵- نمودار تغییر pH در طول رشد ریز جلبک در پساب استخر روباز.

نشان داده شده است. همان گونه که در شکل مشخص است میزان pH در روزهای ابتدایی دچار نوسان‌هایی بود که با گذشت چند روز به مقدار ثابت ۹ رسید. این روند با رفتار ریز جلبک‌ها سازگار است زیرا افزایش pH ناشی از فعالیت فتوسنتزی است و نشان دهنده مصرف بی‌کربنات و مشتق‌های دیگر آن است. با افزایش pH محیط، باکتری‌های رقیب و پاتوژن‌ها از بین می‌روند و محیط برای رشد جلبک مساعد می‌شود.

#### تغییر اکسیژن حل شده

ریز جلبک در طول رشد با مصرف منبع کربن رشد کرده و مقدار زیادی اکسیژن تولید می‌نماید. به همین دلیل میزان اکسیژن حل شده در محیط کشت جلبک به صورت نظری باید افزایش یابد. ولی یکی از هدف‌های هم‌زدن محیط با استفاده از چرخ پارویی در استخر باز، خارج کردن اکسیژن فزونی محیط است زیرا تجمع اکسیژن باعث جلوگیری از رشد ریز جلبک می‌شود. تغییر این پارامتر در طول آزمایش به مدت ۱۰ روز بررسی و مقدار این پارامتر در تعدادی از روزها اندازه‌گیری شد. نتیجه‌های تغییر این پارامتر در جدول ۵ داده شده است. در طول روزهای نخستین رشد، مقدار اکسیژن حل شده کم‌تر بود که با توجه به این که در این روزها هنوز فرایند فتوسنتز به‌طور کامل آغاز نشده است و میکروارگانیسم در فاز تأخیر و تطبیق شرایط به‌سر می‌برد منطقی به نظر می‌رسد. با افزایش



شکل ۴- میزان نیترات، نیتروژن کج‌دال (TKN)، و نیتروژن کل در طی فرایند رشد ریز جلبک در پساب.

جدول ۴ روند تغییرهای محتوای فسفات پساب را در مدت زمان رشد ریز جلبک نشان می‌دهد. نتیجه‌ها نشان داد که کاهش حدود ۵۰٪ در محتوای فسفات پساب در اثر رشد جلبک قابل دستیابی است. افزایش این پارامتر در روز دوم نسبت به روز اول ممکن است به دلیل افزودن مایه تلقیح به پساب باشد چون محیط کشت تلقیح هم خود دارای منبع فسفات بود. ولی در روزهای بعد مقدار آن نسبت به آغاز فرایند کاهش داشت هر چند تغییر الگوی مشخصی نداشت. پساب محل رشد انواع میکروارگانیسم‌های متفاوت می‌باشد و در طول دوره رشد رفتارهای هر گونه به‌طور منفرد و در تعامل با بقیه میکروارگانیسم‌های موجود تأثیرات چشمگیری بر محتوای مواد گوناگون می‌تواند داشته باشد، و این می‌تواند علت دیدن تغییر نامنظم در طول زمان باشد.

#### تغییر pH

پارامتر pH یکی از مهم‌ترین پارامترهای عملیاتی در کشت جلبک است. با توجه به این که از سدیم بی‌کربنات به عنوان منبع کربن استفاده شد و هم‌زمان این ترکیب نقش بافوری در محیط نیز دارد، pH نشان دهنده میزان مصرف منبع کربن و تبدیل یون‌های معادل آن به یک‌دیگر است. مقدار pH فاضلاب خام ۷/۵۰ بود که با افزودن مایه تلقیح به ۷/۷۶ رسید. تغییرات pH در طول رشد در شکل ۵

جدول ۶ - آنالیز پروفیل اسید چرب لیپید به دست آمده از واکنش ترانس استریفیکاسیون اسیدی مستقیم.

اسید چرب	% کل FAME
پالمیتیک اسید (C16:0)	۱۲/۷۲
استئاریک اسید (C18:0)	۷/۲۰
اولئیک اسید (C18:1)	۱۳/۳۴
لینولئیک اسید (C18:2)	۷/۹۴
لینولنیک اسید (C18:3)	۲/۳۹
بقیه	۵/۹۴
کل	۴۹/۵۳
اسیدهای چرب اشباع	۲۱/۹۱
اسیدهای چرب غیر اشباع	۲۷/۶۲

جدول ۷ - نتیجه‌های آزمایش واکنش ترانس استریفیکاسیون اسیدی مستقیم در تولید بیودیزل.

جلبک خشک (گرم)	متانول (میلی لیتر)	اسید سولفوریک (میلی لیتر)	هگزان (میلی لیتر)	میزان بیودیزل (میلی لیتر)
۱۰۰	۷۸۰	۵۳	۱۲۰۰	۲۵

بر طبق اطلاعات جدول ۶ پروفیل اسید چرب غالب در شرایط واکنش، محتوی اسیدهای چرب پالمیتیک، استئاریک، اولئیک، لینولئیک و کمی لینولنیک بود. بر طبق این پروفیل، جرم ملکولی متوسط اسید چرب متیل استر ۲۸۸ گرم بر مول (با توجه به اسیدهای چرب غالب و در صد آن‌ها) و جرم ملکولی متوسط اسید چرب آزاد متناظر ۲۷۴ گرم بر مول در نظر گرفته می‌شود.

بنابراین بر اساس استوکیومتری واکنش تبدیل اسید چرب آزاد به اسید چرب متیل استر (شکل ۶)، ۲۷۴ گرم (معادل یک مول) اسید چرب آزاد، ۲۸۸ گرم (معادل یک مول) اسید چرب متیل استر تولید می‌کند. لذا تولید ۲۰ گرم بیودیزل از ۱۰۰ گرم جلبک خشک که ۲۵ گرم لیپید در خود دارد درصد تبدیل ۷۶٪ را خواهد داد.

### بحث

نتیجه‌های تولید ریزجلبک در پساب شهری در مقیاس نیمه صنعتی نشان داد که این فرآیند از دو جنبه قابل توجه است: الف) توانایی تولید ریزجلبک از پساب و سپس تبدیل آن

جدول ۵ - تغییر اکسیژن حل شده (DO) در طی رشد جلبک در استخر روباز.

زمان (روز)	۲	۴	۶	۸	۹	۱۰
اکسیژن حل شده (میلی گرم بر لیتر)	۵/۴۷	۷/۱۰	۹/۷۱	۹/۶۳	۹/۲۳	۸/۲۳

میزان زی توده و نرخ بیش‌تر فتوسنتز میزان اکسیژن حل شده افزایش چشمگیری نشان داد و به طور متوسط تا روز نهم در سطح ۹/۵۲ باقی ماند. در روز پایانی با توجه به کم شدن میزان زی توده، سطح این پارامتر کاهش ۱۰ درصدی داشت.

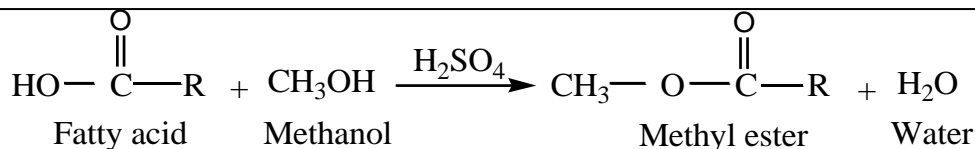
### میزان تبخیر

یکی از موارد مورد توجه در استخرهای روباز مسئله تبخیر آب است. به دلیل سطح تماس زیاد آب با هوا در این نوع از راکتورهای زیستی نوری، و از طرفی در معرض نور بودن سطح، بخشی از آب تبخیر می‌شود. میزان تبخیر در آزمایش انجام شده حدود ۲۰٪ بود که حدود ۱۰۰ لیتر آب از مجموع ۵۰۰ لیتر در مدت زمان کشت (۱۰ روز) تبخیر شد.

### تولید بیودیزل

در این مطالعه برای تولید بیودیزل از روش ترانس استریفیکاسیون مستقیم استفاده شد. واکنش در یک راکتور شیشه ای ۵ لیتری مجهز به ژاکت آب گرم انجام شد. نتیجه‌های آزمایشگاهی استخراج لیپید روی ریزجلبک رشد کرده روی پساب نشان داد که دارای محتوای لیپید ۲۵٪ می‌باشد. آنالیز فرآورده واکنش ترانس استریفیکاسیون در جدول ۶ نشان داد که پروفیل اسید چرب ریزجلبک به دست آمده به طور عمده بر اساس اسیدهای پالمیتیک، اولئیک، و لینولئیک است که با نتیجه‌های به دست آمده از منابع در توافق است [۲۲].

نتیجه‌های واکنش ترانس استریفیکاسیون مستقیم در تولید بیودیزل نیز در جدول ۷ آمده است. با محتوای لیپید ۲۵٪ در ریزجلبک تولید شده، نتیجه‌های تولید بیودیزل نشان داد که هنگامی که ۱۰۰ گرم جلبک خشک استفاده شد ۲۵ میلی لیتر معادل ۲۰ گرم بیودیزل (دانسیته بیودیزل ۰/۸ گرم بر میلی لیتر است) به دست آمد. با توجه به این که ۱۰۰ گرم جلبک ۲۵ گرم لیپید قابل استخراج در خود دارد، از این مقدار ۲۰ گرم بیودیزل به دست آمد که با توجه به استوکیومتری واکنش ترانس استریفیکاسیون اسیدی (شکل ۶)، درصد تبدیل ۷۶٪ است. برای محاسبه این درصد تبدیل، از پروفیل اسید چرب متیل استر استفاده می‌شود.



شکل ۶ - واکنش اسیدهای چرب آزاد با الکل در حضور کاتالیست اسیدی (ترانس استریفیکاسیون اسیدی)

جدول ۸ - مقایسه نتیجه‌های این پژوهش با مطالعه‌های همانند در مورد تولید زی توده جلبکی و لیپید

منبع	درصد کل اسیدهای چرب	محتوای لیپید (در صد وزن خشک)	بهره وری تولید زیست توده (g/l.d)	غلظت زیست توده (g/L)
تحقیق حاضر	۴۹/۵٪	۲۵٪	۰/۱۷۸	۱/۲۵
[۲۲]	۶۷/۴٪	--	--	۰/۳۲
[۲۳]	--	--	--	۰/۳۷۹
[۲۴]	۳۸/۵٪	۲۶٪	۰/۱۵۵	--
[۲۵]	--	--	۰/۰۵۷	--
[۲۱]	--	--	۰/۳۴۰	--
[۲۶]	--	۱۴٪ - ۲۹٪	۰/۰۱۷	۰/۳
[۲۷]	--	--	۰/۰۳۸	--
[۸]	--	۱۰٪ - ۳۰٪	۰/۰۳۰	--
[۲۸]	--	۲۳/۶٪	۰/۱۲۴	--
[۲۹]	۶/۲٪	--	--	۰/۶۳
[۳۰]	--	۱۷٪	۰/۱۰۷	--

نشان دهنده مؤثر بودن روش کشت جلبک در پساب مورد استفاده است. محتوای لیپید به دست آمده از ریزجلبک نیز قابل مقایسه با مطالعه‌های مشابه بود که نشان دهنده مناسب بودن شرایط محیطی پساب برای تولید لیپید است.

رشد ریزجلبک در پساب نتیجه‌های قابل پذیرشی در بهبود پارامترهای پساب داشت اما مقایسه نتیجه‌های به دست آمده با مطالعه‌های مشابه (جدول ۹) نشان می‌دهد که نتیجه‌های به دست آمده در مورد پارامترهای پساب از نتیجه‌های همانند کم‌تر است. در توجیه پایین‌تر بودن این نتیجه‌ها به چند مورد می‌توان اشاره کرد: نخست، مقیاس آزمایش در همه موارد مقایسه بسیار کم‌تر از ۵۰۰ لیتر است. در حجم‌های زیاد راندمان حذف مواد مغذی کاهش یافته و برای رسیدن به راندمان حذف بالا باید زمان کشت طولانی‌تر شود. به عنوان نمونه در مرجع [۲۹] زمان کشت حدود یک هفته است که نتیجه‌های آن همانند نتیجه‌های به دست آمده در این پژوهش است.

به بیودیزل (ب) توانایی در بهبود پارامترهای پساب و انجام تصفیه زیستی.

نتیجه‌های رشد ریز جلبک در این پژوهش با نتیجه‌های مطالعه‌های همانند در جدول ۸ مقایسه شده است. این مقایسه نشان می‌دهد که میزان ریزجلبک تولید شده در استخر روباز با استفاده از پساب در بازه‌ی و یا، در بیش‌تر موردها، بیش‌تر از مقدارهای گزارش شده در منابع است. همچنین حجم کاری راکتور زیستی نوری مورد استفاده، مدت زمان کشت، استفاده از گونه‌های خالص ریزجلبک و یا جامعه ریزجلبکی از جمله عامل‌هایی هستند که می‌توانند بر میزان ریزجلبک تولید شده تأثیر بگذارند. در مقایسه انجام شده در همه موردها حجم فتوبیوراکتور از ۵۰۰ لیتر بسیار کم‌تر بود (به طور عمده در بازه آزمایشگاهی) و به طور عموم از گونه خالص استفاده شد که به طور معمول نسبت به جامعه ریزجلبکی راندمان بیش‌تری دارد. ولی نتیجه‌های به دست آمده قابل رقابت با نتیجه‌های مقایسه شده بود که

### نتیجه گیری

در این مطالعه با هدف ارزیابی پتانسیل روش تصفیه مبتنی بر جلبک برای اصلاح پارامترهای پساب و همچنین ارزیابی پتانسیل پساب برای تولید ریزجلبک در مقیاس نیمه صنعتی و تبدیل آن به بیودیزل، کشت ریز جلبک در پساب در یک استخر روباز ۵۰۰ لیتری مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه‌ها نشان داد که کشت ریزجلبک در پساب، پتانسیل تولید بیودیزل و نیز حذف آلودگی آب را دارد و این امر سبب بالا رفتن ارزش افزوده فرایند می‌شود. نتیجه‌های کمی این مطالعه قابل مقایسه با نتیجه‌های به‌دست آمده در مطالعه‌های همانند و در موردهایی بهتر بود که نشان داد توسعه این فرایند در تصفیه خانه‌های پساب می‌تواند مورد توجه جدی قرار گیرد. این بهبود کیفیت پساب در کنار تولید زی توده جلبکی برتری دوگانه ای ایجاد می‌کند که می‌توان از این زی توده برای تولید بیودیزل با کیفیت مناسب استفاده کرد. در مجموع استفاده از پساب برای کشت ریزجلبک و تولید بیودیزل، یک روش امیدبخش بوده که می‌تواند با مطالعه‌های پیش‌تر به حالت بهینه‌ی خود نزدیک شود. از سوی دیگر، با توجه به قرارگیری بیودیزل در گروه سوخت‌های سبز، می‌توان هم از طریق تصفیه پساب و هم کاهش گازهای گلخانه‌ای محیط زیست سالم‌تری را فراهم ساخت.

### قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی شرکت آب و فاضلاب مشهد انجام شده است. نویسندگان از آقای مهندس علیپور مسئول آزمایشگاه شرکت آب و فاضلاب مشهد، خانم مهندس مجدی و آقای مهندس نیکودل کارشناسان آزمایشگاه برای انجام پاره ای از آزمایش‌ها تشکر و قدردانی می‌کنند. همچنین از کارکنان تصفیه خانه پرکن‌آباد مشهد که در تهیه نمونه‌ها همکاری نمودند تشکر به‌عمل می‌آید.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۶/۳۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۳

جدول ۹- مقایسه نتیجه‌های این پژوهش با مطالعه‌های مشابه در مورد بهبود پارامترهای پساب (حذف مواد مغذی و COD).

حذف نیتروژن کل (%)	حذف فسفات (%)	حذف COD (%)	پژوهش حاضر
۲۵٪	۵۰٪	۵۰٪	پژوهش حاضر
۴۵٪	۸۴٪	۶۱٪	[۲۵]
۷۷٪	۱۰۰٪	۷۰٪	[۲۱]
۸۴٪	۹۹٪	-	[۲۶]
۹۲٪	۷۰٪	-	[۸]
۹۰٪	۸۸/۵٪	۸۶/۳٪	[۲۸]
۵۷/۵٪	۶۸/۸٪	۵۰٪	[۲۹]
۹۰٪	۱۰۰٪	-	[۳۰]

ولی در مرجع [۲۸] زمان کشت ۳۴ روز است که پنج برابر زمان استفاده شده در این پژوهش است در نتیجه میزان حذف بهتر شده است.

تولید ریزجلبک در محیط‌های خالص و سنتزی و تهیه بیودیزل از آن در حال حاضر اقتصادی نیست ولی تولید ریزجلبک در پساب پتانسیل لازم را از منظر اقتصادی فراهم می‌کند. به‌طور کلی گرچه با فناوری‌های موجود میزان بیودیزل به دست آمده از رشد ریزجلبک در پساب کم است اما باید آن را در کنار مزیت‌های دیگر این فرایند قرار داد. تصفیه هم‌زمان پساب، تولید فرآورده‌های با ارزش دیگر مانند رنگدانه‌ها و کاروتن‌ها، حذف فلزهای سنگین از پساب، نیاز نداشتن به آب شرب برای تولید ریزجلبک، استفاده از تأسیسات موجود تصفیه خانه‌ها برای تولید ریزجلبک و نیاز نداشتن به زمین اضافی برای این کار، می‌تواند از جمله این مزیت‌ها باشد. مجموعه این عوامل می‌تواند فرایند رشد ریزجلبک در پساب و تولید بیودیزل را اقتصادی نماید و به عنوان جایگزینی برای سوخت‌های فسیلی مطرح کند.

### مراجع

- [۱] حاج سردار، مهدی؛ برقی، سید مهدی؛ حسنی، امیرحسام؛ تکدستان، افشین؛ بررسی نیتروفیکاسیون و دینتروفیکاسیون هم‌زمان در تصفیه پساب بدون استفاده از منبع کربن خارجی در راکتور ناپیوسته متوالی، نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران، (۲) ۳۵: ۸۳ تا ۹۷ (۱۳۹۵).

- [۲] نجفی، بهمن؛ مدل سازی سینتیک شیمیایی تولید سوخت بیودیزل از روغن پسماند رستوران، نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران، (۲) ۳۰: ۲۵ تا ۳۳ (۱۳۹۰).
- [3] Rodolfi L., Zittelli G.C., Bassi N., Padovani G., Biondi N., Bonin I.G., Tredicil M.R., **Microalgae for Oil: Strain Selection, Induction of Lipid Synthesis and Outdoor Mass Cultivation in a Low-Cost Photobioreactor**, *J. Biotechnology and Bioengineering*, **102**: 100–112 (2009).
- [4] Green F.B., Bernstone L.S., Lundquist T.J., Oswald W.J., **Advanced Integrated Wastewater Pond Systems for Nitrogen Removal**, *Water Science & Technology*, **33**(7): 207-217 (1996).
- [5] Oswald W.J., **My Sixty Years in Applied Algalogy**, *J. Applied Phycology*, **15**(2): 99-106 (2003).
- [6] Oswald W. J., “**Advanced Integrated Wastewater Pond Systems**”, ASCE Convention EE Div/ASCE, San Francisco, CA, Nov. 5-8 (1990).
- [7] Chisti Y., **Biofuel from Microalgae**, *Biotechnology Advances*, **25**(3): 294-306 (2007).
- [8] Park J.B., Craggs R.J., **Algal Production in Wastewater Treatment High Rate Algal Ponds for Potential Biofuel Use**, *Water Sci Technol*, **63**(10): 2403-10 (2011).
- [9] Ruiz-Marin A., Mendoza-Espinosa L.G., Stephenson T., **Growth and Nutrient Removal in Free and Immobilized Green Algae in Batch and Semi-Continuous Cultures Treating Real Wastewater**, *Bioresource Technol.* **101**: 58–64 (2010).
- [10] Mata T.M., Martins A.A., Caetano N. S., **Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A Review**, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **14**: 217-232 (2010).
- [11] Kong Q.X., Li L., Martinez B., Chen P., Ruan R., **Culture of Microalgae *Chlamydomonas Reinhardtii* in Wastewater for Biomass Feedstock Production**, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **160**: 9–18 (2010).
- [12] Orpez R., Martinez M.E., Hodaifa G., El Yousfi F., Jbari N., Sanchez S., **Growth of the Microalga *Botryococcus Braunii* in Secondarily Treated Sewage**, *Desalination*, **246**: 625–630 (2009).
- [13] Chinnasamy S., Bhatnagar A., Hunt R.W., Das K.C., **Microalgae Cultivation in a Wastewater Dominated by Carpet Mill Effluents for Biofuel Applications**, *Bioresource Technol.* **101**: 3097–3105 (2010).
- [14] Roberts G.W., Fortier M.-O.P., Sturn B.S.M., Stagg-Williams S.M., **Promising Pathway for Algal Biofuels Through Wastewater Cultivation and Hydrothermal Conversion**, *Energy & Fuels*, **27**(2): 857-867 (2013).
- [15] Schenk P.M., Thomas-Hall S.R., Stephens E., Marx U.C., Mussgnug J.H., Posten C., Kruse O., Hankamer B., **Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production**, *BioEnergy Research*, **1**(1): 24-30 (2008).
- [16] Mobin S., Alam F., “**Biofuel Production from Algae Utilizing Wastewater**”, *19th Australian Fluid Mechanics Conference, Melbourne, Australia*, 8-11 December (2014).
- [17] Bligh E.G., Dyer W.J., **A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification**, *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, **37**: 911-917(1959).

- [18] Breuer G., Evers W.A., de Vree J.H., Kleinegris D.M., Martens D. E., Wijffels R.H., Lamers P.P., [Analysis of Fatty Acid Content and Composition in Microalgae](#), *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 80:e50628 (2013).
- [19] 4500-N NITROGEN (2017), "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", DOI: 10.2105/SMWW.2882.086
- [۲۰] گلزاری، ابوعلی؛ عبدلی، محمد علی؛ خدادادی، عباسعلی؛ کرباسی، عبدالرضا؛ ایمانیان، سجدا؛ بررسی فرآیندهای انعقاد الکتریکی و شیمیایی برای جداسازی میکرو جلبک های آب شور، نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران، ۳۵(۱): ۳۹-۵۲ (۱۳۹۵).
- [21] Zhu S., Qin L., Feng P., Shang C., Wang Z., Yuan Z., [Treatment of Low C/N Ratio Wastewater and Biomass Production Using Co-Culture of \*Chlorella Vulgaris\* and Activated Sludge in a Batch Photobioreactor](#), *Bioresource Technology*, [In Press] (Available online 17 October 2018).
- [22] Drira N., Piras A., Rosa A., Porcedda S., Dhaouadi H., [Microalgae from Domestic Wastewater Facility's High Rate Algal Pond: Lipids Extraction, Characterization and Biodiesel Production](#), *Bioresource Technology*, **206**: 239-244 (2016).
- [23] Bhatnagar A., Bhatnagar M., Chinnasamy S., Das K., [Chlorella Minutissima – a Promising Fuel Alga for Cultivation In Municipal Wastewaters](#), *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **161**: 523–536 (2010).
- [24] Singh P., Guldhe A., Kumari S., Rawat I., Bux F., [Investigation of Combined Effect of Nitrogen, Phosphorous, and Iron on Lipid Productivity of Microalgae \*Ankistrodesmus Falcatus\* KJ671624 Using Response Surface Methodology](#), *Biochemical Engineering Journal*, **94**: 22-29 (2015).
- [25] Guldhe A., Singh P., Renuka N., Bux F., [Biodiesel Synthesis from Wastewater Grown Microalgal Feedstock Using Enzymatic Conversion: A Greener Approach](#), *Fuel*, **237**: 112-1118 (2019).
- [26] Woertz I., Feffer A., Lundquist T., Nelson Y., [Algae Grown on Dairy and Municipal Wastewater for Simultaneous Nutrient Removal and Lipid Production for Biofuel Feedstock](#), *J. Environmental Engineering*, **135**: 1115-1122 (2009).
- [27] Park J.B.K., Craggs R.J., Shilton A.N., [Wastewater Treatment High Rate Algal Ponds for Biofuel Production](#), *Bioresource Technol.*, **102**: 35-42 (2011).
- [28] Ren H., Tuo J., Addy M.M., Zhang R., Lu Q., Anderson E., Chen P., Ruan R., [Cultivation of \*Chlorella Vulgaris\* in a Pilot-Scale Photobioreactor Using Real Centrate Wastewater with Waste Glycerol for Improving Microalgae Biomass Production and Wastewater Nutrients Removal](#), *Bioresource Technol.*, **245**: 113-1138 (2017).
- [29] De Francisci D., Su Y., Lital A., Angelidaki I., [Evaluation of Microalgae Production Coupled with Wastewater Treatment](#), *Environ Technol*, **39**: 581-592 (2018).
- [30] Alvarez-Diaz P.D., Ruiz J., Arbib Z., Barragan J., Garrido-Perez M.C., Perales J.A., [Freshwater Microalgae for Simultaneous Wastewater Nutrient Removal and Lipid Production](#), *Algal Research*, **24**: 477-485 (2017).