

بررسی پالایش زیستی فلزات سنگین از پساب بیمارستانی با رویکرد ترکیبی EDTA و ریز جلبک *Arthrospira platensis*

حسن غوابشی^۱
سپیده زهرا معصومی زاده^{۱*}

۱. گروه علوم و فناوری‌های زیستی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

* نویسنده مسئول مکاتبات

Zahramasoomi@iau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۰/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۰۷

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد است.

چکیده

پساب‌های بیمارستانی حاوی غلظت‌های بالایی از فلزات سنگین و ترکیبات آلی هستند که تهدیدی جدی برای محیط‌زیست محسوب می‌شوند. هدف این پژوهش، بررسی کارایی ریزجلبک *Arthrospira platensis* در حضور غلظت‌های مختلف EDTA به‌عنوان کلات‌کننده برای حذف فلزات سنگین (سرب، کادمیوم، آهن و آرسنیک) از پساب بیمارستانی بود. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار علاوه بر شاهد (۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۰۸، ۰/۱۲ گرم بر لیتر EDTA) و سه تکرار در دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶:۸ (روشنایی: تاریکی) انجام شد. غلظت فلزات سنگین در روزهای ۱، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ روز پس از کشت اندازه‌گیری گردید. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از آزمون ANOVA و مقایسه میانگین‌ها به روش LSD در سطح احتمال ۵٪ انجام شد. نتایج نشان داد که حذف فلزات سنگین به‌طور معنی‌داری وابسته به غلظت EDTA و زمان بود ($P < 0.05$). نتایج نشان داد که کشت *Arthrospira* در تمامی تیمارهای حاوی EDTA موجب کاهش معنی‌دار غلظت سرب، کادمیوم، آهن و آرسنیک نسبت به تیمار شاهد شد ($P < 0.05$). در هر چهار فلز، غلظت باقی‌مانده در محیط با افزایش زمان تماس از روز اول تا روز دوازدهم روندی کاهشی داشت، به‌گونه‌ای که بیشترین میزان حذف در روز دوازدهم مشاهده شد. همچنین، افزایش غلظت EDTA باعث بهبود راندمان حذف فلزات شد و در اغلب موارد تیمارهای دارای غلظت‌های بالاتر EDTA (به‌ویژه تیمارهای ۰/۰۸ و ۰/۱۲ گرم بر لیتر) کمترین غلظت باقی‌مانده فلز را نشان دادند. مقایسه چهار فلز نشان داد که میزان کاهش غلظت و الگوی اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در هر فلز متفاوت بود که بیانگر تأثیر ویژگی‌های شیمیایی هر فلز بر کارایی حذف است. این یافته‌ها نشان می‌دهد که افزایش مدت تماس و استفاده از غلظت‌های مناسب EDTA می‌تواند ظرفیت حذف فلزات توسط *Arthrospira* را افزایش دهد. در مجموع، نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از *Arthrospira* همراه با EDTA، روشی مؤثر برای کاهش غلظت فلزات سنگین از پساب بیمارستانی بوده و می‌تواند به‌عنوان گزینه‌ای مناسب برای افزایش راندمان کاربردهای زیست‌پالایی مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: زیست‌پالایی، *Arthrospira platensis*، EDTA، عناصر سنگین، سرب، کادمیوم، آهن، آرسنیک، پساب بیمارستانی.

مقدمه

آلودگی منابع آبی به فلزات سنگین یکی از چالش‌های جدی محیط‌زیستی قرن حاضر به شمار می‌رود که پیامدهای گسترده‌ای برای سلامت انسان، پایداری اکوسیستم‌ها و امنیت منابع آب دارد. گسترش فعالیت‌های درمانی و افزایش مراکز بهداشتی درمانی در سال‌های اخیر، منجر به تولید حجم قابل‌توجهی از پساب‌های بیمارستانی حاوی ترکیبات شیمیایی پیچیده، داروها، مواد ضدعفونی‌کننده و فلزات سنگین شده است (Singh et al., 2019). فلزات سنگینی نظیر سرب (Pb)، کادمیوم (Cd)، آرسنیک (As) و آهن (Fe) به دلیل ویژگی‌هایی همچون سمیت بالا، قابلیت تجمع زیستی، پایداری شیمیایی و عدم تجزیه‌پذیری، خطرات جدی برای موجودات زنده و زنجیره‌های غذایی ایجاد می‌کنند (Ayangbenro and Babalola, 2017). تماس طولانی‌مدت با این عناصر می‌تواند منجر به بروز

اختلالات عصبی، آسیب‌های کلیوی، اثرات سرطان‌زا و جهش‌زا شود. از این‌رو، حذف مؤثر این آلاینده‌ها از پساب‌های بیمارستانی پیش از ورود به محیط‌زیست امری ضروری است. روش‌های متداول تصفیه فلزات سنگین، از جمله رسوب‌دهی شیمیایی، تبادل یونی، فیلتراسیون غشایی و جذب سطحی، علی‌رغم کارایی قابل‌قبول، با محدودیت‌هایی نظیر هزینه عملیاتی بالا، مصرف زیاد مواد شیمیایی، کاهش راندمان در غلظت‌های پایین فلزات و تولید لجن‌های سمی ثانویه مواجه هستند (Akcil *et al.*, 2015). این چالش‌ها سبب شده است توجه پژوهشگران به توسعه فناوری‌های نوین، پایدار و دوستدار محیط‌زیست معطوف شود. در این میان، زیست‌پالایی با استفاده از میکروارگانیسم‌ها به‌ویژه ریزجلبک‌ها، به‌عنوان یک رویکرد سبز و مقرون‌به‌صرفه، جایگاه ویژه‌ای در تصفیه فاضلاب‌ها یافته است (Kumar *et al.*, 2015). ریزجلبک‌های سیانوباکتریایی به دلیل رشد سریع، سازگاری با شرایط متنوع محیطی و توانایی بالای جذب آلاینده‌ها، گزینه‌ای مناسب برای حذف فلزات سنگین محسوب می‌شوند.

Arthrospira platensis به عنوان یکی از مهم‌ترین سیانوباکتری‌های رشته‌ای، به سبب تولید پلی‌ساکاریدها و لعاب خارج سلولی غنی از گروه‌های عاملی فعال نظیر کربوکسیل، آمین و هیدروکسیل، توان بالایی در جذب زیستی فلزات سنگین از محیط‌های آبی نشان داده است (Abdel-Aty *et al.*, 2013). علاوه بر این، توانایی رشد این ریزجلبک در شرایط قلیایی، شوری بالا و غلظت‌های مختلف آلاینده‌ها، آن را به گزینه‌ای مناسب برای تصفیه پساب‌های صنعتی و بیمارستانی تبدیل کرده است (Sili *et al.*, 2012).

از سوی دیگر، استفاده از عوامل کلات‌کننده سنتزی نظیر اتیلن دی‌آمین تتراسنتیک اسید (EDTA) می‌تواند با افزایش حلالیت و تحرک فلزات سنگین در محیط آبی، راندمان فرایندهای زیست‌پالایی را بهبود بخشد (Ren *et al.*, 2014). از طریق تشکیل کمپلکس‌های پایدار محلول با یون‌های فلزی، مانع از رسوب آن‌ها شده و در نتیجه دسترسی زیستی فلزات برای جذب توسط ریزجلبک‌ها را افزایش می‌دهد (Singh *et al.*, 2016). با این حال، میزان تأثیرگذاری EDTA به غلظت فلز، شرایط محیطی و نوع زیست‌توده مورد استفاده وابسته است. سلیمانی و معصومی زاده (۱۴۰۲) اثرات EDTA را در پنج بیمار (شاهد، ۰/۰۱، ۰/۰۴، ۰/۰۸ و ۰/۱۲ گرم بر لیتر) بر میزان رشد، کلروفیل و کاروتنوئیدهای میکروجلبک *Nannochloropsis oculata* ارزیابی کردند و اظهار داشتند که بیشترین میزان کلروفیل *a* در روز پانزدهم تیمار (۰/۱۲ گرم بر لیتر) بود و اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ولی افزایش EDTA اثر افزایشی بر میزان کلروفیل *b* نداشت و بیشترین مقدار مربوط به روز هفتم و تیمار ۰/۰۸ گرم بر لیتر بود. بیشترین میزان کاروتنوئیدها تیمار ۰/۱۲ و روز سیزدهم و بیشترین تراکم سلولی مربوط به روز پانزدهم و تیمار ۰/۱۲ گرم بر لیتر بوده است. نتایج این تحقیق نشان داد افزایش EDTA سبب افزایش میزان رنگیزه‌ها، رشد سلولی و افزایش مدت زمان فاز لگاریتمی می‌شود. رضائی و همکاران (۱۳۹۶) در پژوهشی با عنوان «جذب بیولوژیکی یون کادمیوم از محلول‌های آبی با استفاده از جلبک سندسموس *Scenedesmus sp.* توانایی این جلبک را برای حذف کادمیوم از محلول‌های آبی بررسی نمودند. نتایج نشان داد که افزایش زمان تماس و شرایط مناسب pH موجب افزایش راندمان جذب کادمیوم شد و این میکروجلبک ظرفیت مناسبی برای زیست‌جذب فلزات سنگین دارد. پژوهشگران نتیجه گرفتند که استفاده از ریزجلبک‌ها می‌تواند جایگزینی مناسب برای روش‌های شیمیایی در حذف فلزات سنگین باشد.

با وجود مطالعات متعدد در زمینه زیست‌پالایی فلزات سنگین توسط ریزجلبک‌ها، پژوهش‌های محدودی به بررسی اثر سینرژیستی EDTA و *Arthrospira platensis* در تصفیه پساب‌های واقعی بیمارستانی پرداخته‌اند. به‌ویژه اطلاعات اندکی در خصوص تأثیر این تیمار ترکیبی بر حذف هم‌زمان فلزات سنگین وجود دارد. بر این اساس، هدف پژوهش حاضر ارزیابی کارایی تیمار ترکیبی EDTA و *Arthrospira platensis* در حذف فلزات سنگین منتخب و بهبود کیفیت پساب بیمارستانی است. نتایج این مطالعه می‌تواند گامی مؤثر در توسعه سامانه‌های تصفیه زیستی پایدار، کم‌هزینه و سازگار با محیط‌زیست برای مدیریت پساب‌های پیچیده بیمارستانی باشد.

مواد و روش‌ها

پس از تهیه استوک اولیه ریز جلبک *Arthrospira platensis* برای به دست آوردن حجم کافی استوک مورد نیاز برای تلقیح ۵ تیمار، در محیط کشت جردن اصلاح شده تکثیر شد و سپس به میزان ۱۰ درصد در پساب بیمارستانی اتوکلاو شده و محیط کشت جردن در ۵ تیمار با غلظت‌های مختلف EDTA کشت داده شد. کشت در دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد، دوره نوری ۱۶:۸ (روشنایی: تاریکی) و شدت نور ۲۵۰۰ لوکس انجام شد. نمونه پساب از بیمارستان امیرالمؤمنین اهواز در بهار ۱۳۹۸ جمع‌آوری و غلظت فلزات سنگین آن اندازه‌گیری شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و شاهد و در ۳ تکرار انجام شد. تیمارها شامل: شاهد بدون EDTA و ریزجلبک، تیمار ۱ (۰/۰۱ گرم بر لیتر EDTA)، تیمار ۲ (۰/۰۲ گرم بر لیتر EDTA)، تیمار ۳ (۰/۰۴ گرم بر لیتر EDTA)، تیمار ۴ (۰/۰۸ گرم بر لیتر EDTA) و تیمار ۵ (۰/۱۲ گرم بر لیتر EDTA) بودند. ریزجلبک با غلظت یکسان در ظروف ۱/۵ لیتری حاوی ۱ لیتر پساب تلقیح شد. غلظت فلزات سنگین (سرب، کادمیوم، آهن و آرسنیک) با استفاده از دستگاه جذب اتمی (AAS) در روزهای ۱، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ پس از کشت و در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز تعیین گردید. جهت سنجش فلزات سنگین آهن، کادمیوم، سرب و آرسنیک در تیمارها، پس از سانتریفیوژ ۱۰۰ میلی لیتر از نمونه‌های پساب تیمارها با دور ۲۰۰g به مدت ۵ دقیقه، روشناور جدا شد. به ۵۰ میلی لیتر از روشناور، ۵ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ اضافه کرده و چند عدد سنگ جوش به آنها اضافه شد. نمونه‌ها حرارت داده شدند تا زمانی که حجم نمونه به ۱۰ تا ۲۰ میلی لیتر رسید. سپس به محلول به آرامی اسید نیتریک اضافه شد تا نمونه شفاف گردد (هضم شود). اندازه‌گیری میزان فلزات سنگین در نمونه با کمک دستگاه جذب اتمی انجام شد. جهت ساخت محلول استاندارد کالیبراسیون از استانداردهای مولتی فلز مادر با استفاده از آب دیونیزه استفاده شد. جهت آنالیز دقیق‌تر، یک نمونه شاهد، یک نمونه مرجع و یک نمونه استاندارد برای چک دستگاه قبل از آنالیز نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و همگنی واریانس‌ها با آزمون اوین بررسی شد. داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس دو طرفه (Two-way ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها به روش LSD در سطح احتمال ۵٪ با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ آنالیز شدند. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شدند.

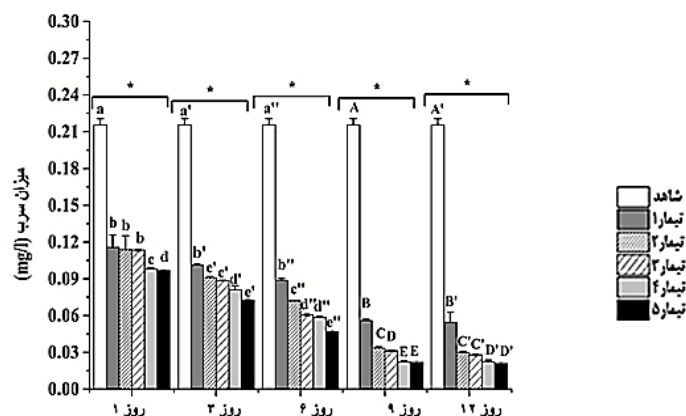
نتایج

میزان عناصر سنگین اولیه در پساب بدون EDTA و ریزجلبک اندازه‌گیری و مقادیر شامل سرب ($0/038 \pm 0/215$ میلی‌گرم بر لیتر)، کادمیوم ($0/025 \pm 0/114$ میلی‌گرم بر لیتر)، آهن ($0/045 \pm 0/393$ میلی‌گرم بر لیتر)، آرسنیک ($0/020 \pm 0/022$ میلی‌گرم بر لیتر) بود.

سرب

نمودار ۱ نشان می‌دهد در همه تیمارها با افزایش زمان و غلظت EDTA غلظت سرب باقیمانده به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$). چنانچه غلظت سرب باقیمانده بین شاهد (بدون ریزجلبک و EDTA) و سایر تیمارها (غلظت‌های مختلف EDTA همراه با آرتروسپیرا) اختلاف آماری معنی‌داری داشته‌اند. همچنین میزان حذف سرب بین روزهای مختلف نیز اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد، به عبارت دیگر غلظت EDTA و افزایش زمان بر حذف سرب در حضور *A. plathensis* کاملاً موثر بوده است. از سوی دیگر، در تمام تیمارهای دارای آرتروسپیرا، غلظت سرب به‌تدریج با گذشت زمان کاهش یافته است. در روز اول، اختلاف بین تیمارها نسبتاً محدود است، اما با افزایش زمان، اختلاف عملکرد تیمارها بیشتر می‌شود. در روز اول پس از کشت بین تیمارهای ۱ و ۲ و ۳ اختلاف آماری معنی‌داری وجود ندارد به عبارت دیگر غلظت EDTA تا $0/04$ گرم بر لیتر همان اثر غلظت $0/01$ گرم بر لیتر را دارد. در مقابل، تیمارهای ۴ و ۵ دارای غلظت باقی‌مانده کمتری هستند و اختلاف معنی‌داری با تیمارهای قبلی دارند. بنابراین از همان روز نخست، غلظت‌های بالاتر EDTA موجب افزایش حذف سرب شده‌اند. در تمام تیمارها با افزایش زمان، غلظت باقی‌مانده سرب کاهش یافته است. بیشترین کاهش از روز اول تا روز نهم اتفاق افتاده است. از روز نهم تا دوازدهم سرعت حذف کمتر شده و سیستم به حالت تعادل نزدیک می‌شود. این رفتار با سینتیک جذب

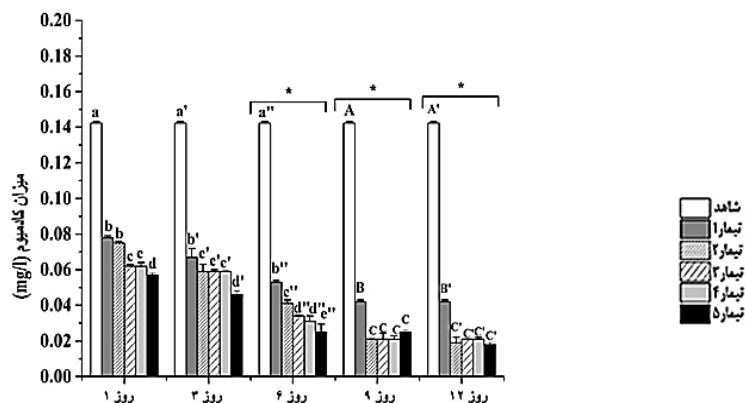
زیستی فلزات سنگین توسط ریز جلبک‌ها مطابقت دارد، زیرا ابتدا جایگاه‌های فعال سطح سلول به سرعت فلز را جذب می‌کنند و سپس با اشباع تدریجی این جایگاه‌ها، سرعت جذب کاهش می‌یابد.



نمودار ۱: غلظت باقیمانده سرب در تیمارهای مختلف (میانگین $\pm$ انحراف معیار)، حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها و * نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین روزها است ($P < 0.05$).

کادمیوم

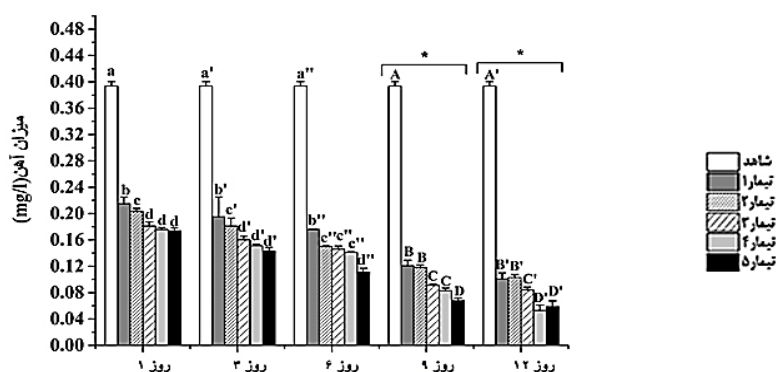
همان‌طور که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود در تمامی تیمارهای حاوی آرتروسپیرا و EDTA، غلظت کادمیوم از همان روز اول نسبت به شاهد کاهش یافته و این کاهش در طول زمان ادامه یافته است که بیانگر توانایی آرتروسپیرا در حذف کادمیوم از محیط است. در روز اول اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده می‌شود، به‌طوری‌که تیمار ۵، ۰/۱۲ گرم بر لیتر EDTA کمترین غلظت کادمیوم را دارد، در حالی که تیمار ۱، ۰/۰۱ گرم بر لیتر EDTA بیشترین غلظت را در میان تیمارهای آزمایشی نشان می‌دهد. این روند نشان می‌دهد که افزایش غلظت EDTA موجب افزایش حذف کادمیوم شده است. در روز سوم نیز همین الگو ادامه دارد و همه تیمارها نسبت به روز اول کاهش بیشتری در غلظت کادمیوم نشان می‌دهند. با این حال، اختلاف بین تیمارهای دارای غلظت‌های بالاتر EDTA کمتر شده است که می‌تواند نشان‌دهنده نزدیک شدن سیستم به ظرفیت جذب باشد. از روز ششم به بعد، کاهش غلظت کادمیوم در همه تیمارها چشمگیرتر شده و اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای دارای EDTA کم و بیش وجود دارد. وجود اختلاف معنی‌دار بین روزهای ۶، ۹ و ۱۲ نشان می‌دهد که اثر زمان بر کاهش غلظت کادمیوم نیز از نظر آماری معنی‌دار بوده است ($P < 0.05$). در روزهای نهم و دوازدهم، تیمارهای ۳، ۴ و ۵ به کمترین غلظت کادمیوم رسیده‌اند و اختلاف بین آنها بسیار کم است. این موضوع نشان می‌دهد که افزایش EDTA از ۰/۰۸ به ۰/۱۲ گرم بهبود کمی در حذف کادمیوم ایجاد کرده و احتمالاً سیستم به حد اشباع یا حداکثر ظرفیت جذب زیستی نزدیک شده است.



نمودار ۲: غلظت باقیمانده کادمیوم در تیمارهای مختلف (میانگین $\pm$ انحراف معیار)، حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها و * نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین روزها است ($P < 0.05$).

آهن

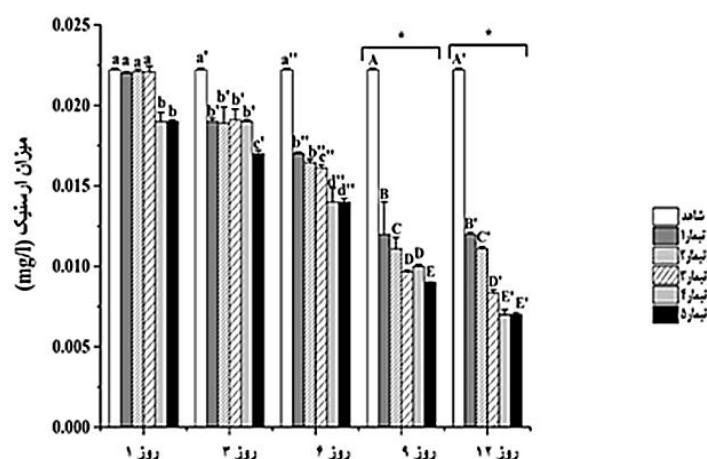
نمودار ۳ نشان می‌دهد در تمام روزهای نمونه‌برداری غلظت آهن در تیمارهای دارای جلبک و EDTA کمتر از شاهد بوده و با افزایش غلظت EDTA میزان آهن باقیمانده کاهش یافته است. به عبارت دیگر، تیمار ۵ (۰/۱۲ گرم بر لیتر EDTA) کمترین غلظت آهن را در تمام روزها داشته و بیشترین راندمان حذف را نشان داده است. مقایسه روند تغییرات در طول زمان در تمام تیمارهای حاوی جلبک، غلظت آهن از روز اول تا روز دوازدهم روندی کاهشی داشته است. روز اول پس از کشت حذف آهن محدود و اختلاف بین تیمارها نسبتاً کم است. در روز سوم پس از کشت، کاهش آهن نسبت به روز اول بیشتر شده و اثر افزایش غلظت EDTA واضح‌تر می‌شود. روز ششم و نهم افت قابل توجهی در غلظت آهن مشاهده و بیشترین اختلاف بین شاهد و تیمارهای دارای EDTA دیده می‌شود. در روز دوازدهم کمترین غلظت آهن در تمام تیمارها ثبت شده و راندمان حذف به بیشترین مقدار خود رسیده است.



نمودار ۳: غلظت باقیمانده آهن در تیمارهای مختلف (میانگین $\pm$ انحراف معیار)، حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها و * نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین روزها است ($P < 0.05$).

آرسنیک

نمودار ۴ غلظت آرسنیک را در زمان رشد آرتروسپیرا و مقادیر مختلف EDTA نشان می‌دهد. در روز اول، اختلاف معنی‌داری بین شاهد و تیمارهای حاوی غلظت‌های پایین EDTA مشاهده نشد که نشان می‌دهد هنوز زمان کافی برای جذب زیستی آرسنیک فراهم نشده است. تنها تیمار حاوی ۰/۱۲ درصد EDTA، غلظت آرسنیک کمتری نسبت به سایر تیمارها داشت و اختلاف معنی‌داری را نشان داد. به عبارت دیگر حذف آرسنیک در بالاترین غلظت EDTA است. در روز سوم اختلاف آماری معنی‌داری در تیمار ۵ نسبت به بقیه تیمارها مشاهده شد. در صورتی که افزایش EDTA تا ۰/۰۸ گرم بر لیتر اثر معنی‌داری بر جذب آرسنیک توسط آرتروسپیرا نداشته است. در روز ششم، کاهش غلظت آرسنیک در تمام تیمارهای آزمایشی ادامه یافت. به طوری که هرچه غلظت EDTA افزایش یافت، مقدار آرسنیک باقی‌مانده کمتر شد و اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بیشتر نمایان گردید. تیمارهای ۰/۰۸ و ۰/۱۲ گرم بر لیتر EDTA کمترین غلظت آرسنیک را نشان دادند که نشان می‌دهد هر چه غلظت EDTA بیشتر شود، جذب آرسنیک نیز افزایش می‌یابد. در روزهای نهم و دوازدهم بیشترین راندمان حذف آرسنیک مشاهده شد و تمام تیمارهای حاوی آرتروسپیرا و EDTA کاهش قابل توجهی را نشان دادند. کمترین غلظت آرسنیک مربوط به تیمار ۰/۱۲ گرم بر لیتر EDTA بود که بیانگر بالاترین راندمان حذف در بین تیمارهای مورد بررسی است.



نمودار ۴: غلظت باقیمانده آرسنیک در تیمارهای مختلف (میانگین $\pm$ انحراف معیار)، حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها و * نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین روزها است ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر با هدف ارزیابی یک رویکرد ترکیبی نوآورانه در زیست‌پالایی پساب‌های بیمارستانی طراحی شد. اساس نظری این تحقیق بر دو پایه استوار است: توانایی ذاتی ریزجلبک‌ها در جذب فلزات سنگین از طریق مکانیسم‌های فعال و غیرفعال و همچنین پتانسیل کلات‌کننده‌های سنتزی مانند EDTA در افزایش تحرک و دسترسی زیستی فلزات. اگرچه مطالعات متعددی به‌صورت جداگانه هر یک از این اجزا را بررسی کرده‌اند، اما تعامل هم‌زمان این دو جزء در محیط پیچیده پساب بیمارستانی کمتر مورد توجه قرار گرفته بود. پساب بیمارستانی به‌عنوان یک ماتریکس چندجزیی حاوی فلزات سنگین، ترکیبات آلی دارویی، مواد ضدعفونی‌کننده و مواد آلی پیچیده، چالش‌های منحصربه‌فردی را برای فرایندهای تصفیه زیستی ایجاد می‌کند. تفسیر جامع نتایج حذف فلزات سنگین و تحلیل اختلاف معنی‌دار روند کلی و وابستگی به زمان و غلظت به‌وضوح نشان می‌دهد که حذف فلزات سنگین به‌طور معنی‌داری به دو عامل زمان تماس (از ۱ تا ۱۲ روز پس از کشت) و غلظت EDTA (از ۰/۰۱ تا ۰/۱۲ گرم بر لیتر) وابسته است. به‌طور کلی جذب فلزات ابتدا از طریق گروه‌های عاملی مانند کربوکسیل، هیدروکسیل، فسفات، آمین و سولفات انجام می‌شود و سپس بخشی از فلزات به داخل سلول منتقل شده و به‌وسیله متالوتیونین‌ها و فیتوکلاتین‌ها ذخیره می‌شوند (Leong and Chang, 2020).

نتایج نمودار ۱ نشان می‌دهد که افزایش غلظت EDTA تا حدود ۰/۰۸ باعث افزایش راندمان حذف سرب شده است. احتمالاً EDTA با تشکیل کمپلکس‌های محلول و افزایش دسترسی یون‌های سرب به سطح سلول، جذب زیستی را تسهیل کرده است. با این حال، افزایش غلظت از ۰/۰۸ به ۰/۱۲ تنها بهبود اندکی ایجاد کرده و اختلاف آماری قابل‌توجهی مشاهده نمی‌شود، بنابراین به نظر می‌رسد غلظت ۰/۰۸ گرم بر لیتر EDTA نقطه‌ای نزدیک به غلظت بهینه برای این شرایط کشت باشد. به‌طور کلی، نمودار ۱ نشان می‌دهد که استفاده از آرتروسپیرا همراه با EDTA باعث کاهش معنی‌دار غلظت سرب نسبت به شاهد شده است ($P < 0.05$). همچنین راندمان حذف با افزایش زمان تماس و افزایش غلظت EDTA نیز افزایش یافته است. در پژوهش حاضر، حضور آرتروسپیرا همراه با EDTA باعث کاهش معنی‌دار غلظت سرب شد. بیشترین راندمان حذف در تیمارهای حاوی ۰/۰۸ و ۰/۱۲ گرم در لیتر EDTA و در روزهای نهم و دوازدهم مشاهده شد که نشان‌دهنده اثر هم‌زمان زمان تماس و غلظت عامل کی‌لیت‌کننده بر افزایش ظرفیت جذب زیستی است.

سرب معمولاً بیشترین تمایل را به اتصال به گروه‌های کربوکسیل و فسفات دیواره سلولی دارد و به همین دلیل اغلب بیشترین ظرفیت زیست‌جذب را نشان می‌دهد (Leong and Chang, 2020). مطالعه Ferreira و همکاران (2011) نشان داد که زیست‌توده *Arthrospira platensis* قادر است سرب را از محلول‌های آبی با راندمان بالایی حذف کند و ظرفیت جذب آن حدود ۱۷۰ میلی‌گرم

سرب بر گرم زیست توده خشک گزارش شد. پژوهشگران بیان کردند که گروه‌های عاملی مانند کربوکسیل، هیدروکسیل و فسفات موجود در دیواره سلولی مهم‌ترین نقش را در اتصال یون‌های Pb^{+2} ایفا می‌کنند و افزایش زمان تماس باعث افزایش جذب تا رسیدن به حالت تعادل می‌شود، روندی که با کاهش تدریجی غلظت سرب در تیمارهای تحقیق حاضر نیز کاملاً مطابقت دارد. همچنین، پژوهش Alshididi و همکاران (2024) روی سیانوباکتری *Synechococcus elongatus* نشان داد که این ریزجلبک در غلظت اولیه 0.5 mg/L سرب توانست تا ۱۰۰ درصد حذف سرب در روز دهم را در حضور CO_2 و حدود ۹۹/۹ درصد در روز چهاردهم بدون CO_2 به دست آورد. این مطالعه نشان می‌دهد که سیانوباکتری‌ها، از جمله آرتروسپیرا، ظرفیت بسیار بالایی برای حذف سرب دارند و در شرایط بهینه می‌توانند راندمان حذف بسیار بالایی داشته باشند. اگرچه در تحقیق حاضر حذف کامل مشاهده نشده است، اما روند افزایشی حذف با افزایش زمان و بهبود عملکرد در غلظت‌های بالاتر EDTA با نتایج این مطالعه مطابقت دارد.

به‌طور کلی، نتایج نمودار ۲ نشان می‌دهد که استفاده هم‌زمان از آرتروسپیرا و EDTA باعث کاهش معنی‌دار نسبت به شاهد شده است. با افزایش غلظت EDTA از ۰/۰۱ تا ۰/۰۸ گرم، راندمان حذف کادمیوم افزایش یافته است. افزایش EDTA از ۰/۰۸ به ۰/۱۲ گرم بهبود محدودی ایجاد کرده و از نظر اقتصادی استفاده از ۰/۰۸ گرم EDTA به‌صرفه‌تر است. Chandrashekharaiyah و همکاران (2021) توانایی دو ریزجلبک *Scenedesmus acutus* و *Chlorella pyrenoidosa* را در حذف کادمیوم بررسی نمودند. پس از ۸ روز، *Scenedesmus acutus* حدود ۵۷/۱ درصد و *Chlorella pyrenoidosa* حدود ۴۵/۵ درصد از کادمیوم را حذف کردند. نویسندگان نشان دادند که جذب سطحی مهم‌ترین مکانیسم حذف بوده و گونه *Scenedesmus* به دلیل داشتن گروه‌های عاملی بیشتر در دیواره سلولی، کارایی بالاتری نسبت به *Chlorella* دارد. در مطالعه دیگری، Duque و همکاران (2019) سه ریزجلبک، *Scenedesmus sp.*، *Chlorella sp.* و *Ankistrodesmus sp.* را از نظر تحمل و حذف کادمیوم ارزیابی کردند. بیشترین راندمان حذف مربوط به *Scenedesmus sp.* بود که حدود ۳۲/۷ درصد کادمیوم را از محیط حذف کرد، درحالی‌که *Chlorella* در غلظت‌های پایین‌تر عملکرد بهتری نشان داد. پژوهشگران نتیجه گرفتند که اختلاف راندمان حذف بین گونه‌ها به تفاوت ترکیب دیواره سلولی و ظرفیت تجمع زیستی فلزات بستگی دارد. در مطالعه Dzizi و همکاران (2022) نیز حذف کادمیوم از پساب صنعتی با استفاده از *Chlorella vulgaris* و *Aphanocapsa zanardinii* بررسی شد. نتایج نشان داد که *Chlorella vulgaris* حدود ۸۶/۱ درصد و *Aphanocapsa zanardinii* حدود ۷۵/۱ درصد کادمیوم را حذف کردند. پژوهشگران این کارایی بالا را به وجود پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی، گروه‌های کربوکسیل و فسفات در دیواره سلولی و توانایی بالای زیست‌انباشت فلز نسبت دادند. نتایج این مطالعه نیز با روند مشاهده‌شده در تحقیق حاضر همسو است و نشان می‌دهد که ریزجلبک‌ها قادرند بخش قابل توجهی از کادمیوم موجود در پساب را حذف کنند، اگرچه میزان حذف به گونه جلبکی، غلظت اولیه فلز، زمان تماس و شرایط محیطی وابسته است.

نتایج نمودار ۳ نشان می‌دهد که استفاده هم‌زمان از ریزجلبک *Arthrospira* و EDTA موجب کاهش مؤثر غلظت آهن در پساب شده است. با افزایش غلظت EDTA، راندمان جذب آهن توسط ریزجلبک را افزایش داده است. با توجه به نیاز آرتروسپیرا به آهن برای رشد و همچنین نقش EDTA در افزایش قابلیت دسترسی، جذب یون‌های آهن توسط زیست توده جلبکی با سرعت و مقدار بیشتری صورت گرفته است. علاوه بر این، افزایش مدت زمان تماس از ۱ تا ۱۲ روز باعث افزایش تدریجی حذف آهن شده که احتمالاً ناشی از افزایش زیست توده جلبک و افزایش نیاز به آهن و فراهم شدن زمان بیشتر برای جذب درون سلولی یون‌های آهن است. بنابراین، تیمار ۵ در روز دوازدهم بهترین عملکرد را در حذف آهن از پساب نشان داد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که غلظت آهن در تمامی تیمارهای حاوی *Arthrospira* طی دوره آزمایش روندی کاهشی داشت و با افزایش زمان تماس، میزان حذف آهن افزایش یافت. همچنین، افزایش غلظت EDTA موجب بهبود کارایی حذف آهن شد، به‌طوری‌که تیمار حاوی بیشترین غلظت EDTA در پایان دوره آزمایش بیشترین راندمان حذف را نشان داد. این نتایج با مطالعه پژوهشی Wang و همکاران (2022) هم‌راستا است. این محققین تولنایی چهار گونه ریزجلبک شامل *Microcystis aeruginosa*، *Chlorella*، *pyrenoidosa* و *Scenedesmus obliquus* را در حذف آهن، منگنز و مس از محیط آبی بررسی کردند.

نتایج نشان داد که هر چهار گونه قادر به حذف آهن بودند، اما *Microcystis aeruginosa* بیشترین کارایی را داشت. همچنین با افزایش زمان، راندمان حذف فلزات به تدریج افزایش یافت و بیشترین میزان حذف در روز چهارم مشاهده شد. این افزایش احتمالا به دلیل رشد زیست توده ریز جلبکی، افزایش pH محیط تا حدود ۱۰ در اثر فعالیت فتوسنتزی و افزایش ظرفیت جذب و تجمع یون های فلزی است. رفتار آهن با سایر فلزات متفاوت است، زیرا یک عنصر ضروری برای رشد ریز جلبک بوده و حذف آن علاوه بر زیست جذب، تحت تأثیر جذب فعال، تغییر pH و رسوب هیدروکسیدهای آهن قرار می گیرد (Leong and Chang, 2020).

نمودار ۴ و مقایسه آن با سایر نمودارها نشان می دهد که میزان جذب آرسنیک به نسبت فلزات دیگر توسط آرتروسپیرا بسیار کمتر بوده و جذب این فلز همراه با غلظت های بالای EDTA به زمان طولانی تری نیاز داشته است. در مطالعه Silva-Benavides و همکاران (2025)، توانایی دو میکرو جلبک *Chlorella vulgaris* و *Scenedesmus dimorphus* برای حذف آرسنیک از آب آلوده بررسی شد. نتایج نشان داد که *Chlorella vulgaris* پس از ۸ روز حدود ۲۰/۵ درصد و پس از ۱۳ روز ۳۱/۷ درصد آرسنیک را حذف کرد، در حالی که *Scenedesmus dimorphus* پس از ۱۳ روز به راندمان ۴۷/۲ درصد دست یافت. پژوهشگران نتیجه گرفتند که افزایش مدت زمان تماس باعث افزایش جذب زیستی و تجمع آرسنیک در زیست توده می شود و هر دو گونه بیش از ۹۷ درصد آرسنیک جذب شده را در زیست توده خود انباشت کردند. این روند مشابه نتایج پژوهش حاضر است که در آن نیز افزایش زمان تماس از روز اول تا دوازدهم موجب کاهش پیوسته غلظت آرسنیک شد. مطالعه Saavedra و همکاران (2018) چهار گونه میکرو جلبک سبز را برای حذف همزمان آرسنیک و سایر فلزات سنگین مقایسه کرد. بیشترین راندمان حذف آرسنیک مربوط به *Scenedesmus almeriensis* بود که حدود ۴۰/۷ درصد آرسنیک را در مدت سه ساعت حذف کرد، در حالی که راندمان حذف مس، روی و منگنز به ترتیب ۸۸، ۹۱/۹ و ۹۹/۴ درصد گزارش شد. نویسندگان بیان کردند که آرسنیک نسبت به بسیاری از فلزات سنگین دشوارتر جذب می شود، زیرا رفتار شیمیایی آن با کاتیون های فلزی متفاوت است. در تحقیق حاضر نیز میزان حذف آرسنیک نسبت به سرب، کادمیوم و آهن کمتر بوده است. بنابراین، دستیابی به حذف بالاتر آرسنیک نیازمند شرایط بهینه تر، زمان تماس بیشتر یا استفاده از عوامل کمکی مانند EDTA است.

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از *Arthrospira* در ترکیب با EDTA توانست غلظت سرب، کادمیوم، آهن و آرسنیک را در پساب به طور معنی داری در مقایسه با تیمار شاهد کاهش دهد ($P < 0.05$). در تمامی فلزات، با افزایش مدت زمان تماس از روز اول تا روز دوازدهم، غلظت باقی مانده فلزات روندی کاهشی داشت و این کاهش در تیمارهای دارای EDTA نسبت به شاهد مشخص بود. همچنین، افزایش غلظت EDTA به طور کلی با افزایش کارایی حذف همراه بود، به طوری که در بیشتر موارد تیمارهای دارای غلظت های بالاتر EDTA همراه با میکرو جلبک آرتروسپیرا کمترین غلظت باقی مانده فلزات را نشان دادند. اگرچه شدت پاسخ فلزات به تیمارها یکسان نبود، اما روند مشابه کاهش غلظت در هر چهار فلز بیانگر آن است که زمان تماس و حضور EDTA دو عامل کلیدی در افزایش کارایی حذف توسط *Arthrospira* هستند. در مجموع، یافته های این پژوهش نشان می دهد که کشت مبتنی بر *Arthrospira* همراه با EDTA از ظرفیت مناسبی برای کاهش همزمان چند فلز از پساب برخوردار است و می تواند به عنوان یک روش زیست پالایی مؤثر و کم هزینه برای تصفیه پساب های بیمارستانی و یا آلوده به فلزات سنگین مورد توجه قرار گیرد.

منابع

- رضائی، ح.، حسینی، س. ع.، رضایی، ا.، و قربانی، ر. ۱۳۹۶. جذب بیولوژیکی یون کادمیوم از محلول های آبی با استفاده از جلبک سندسموس (*Scenedesmus sp.*). بهره برداری و پرورش آبزیان، جلد ششم، شماره اول، ۷۵-۸۳.
- سلیمانی، ع. و معصومی زاده، س. ز. ۱۴۰۲. بررسی اثرات EDTA بر میزان رشد، کلرفیل و کارتنوئیدهای میکرو جلبک *Nannochloropsis oculata*. اکوبیولوژی تالاب، سال پانزدهم، شماره ۵۵، ۷۴-۸.

- Abdel-Aty, A.M., Ammar, N.S., Ghafar, H.H.A., and Ali, R.K., 2013.** Biosorption of cadmium and lead from aqueous solution by fresh water alga *Anabaena sphaerica* biomass. *Journal of Advanced Research*, 4(4), 367-374.
- Akcil, A., Erust, C., Ozdemiroglu, S., Fonti, V., and Beolchini, F., 2015.** A review of approaches and techniques used in aquatic contaminated sediments: Metal removal and stabilization by chemical and biotechnological processes. *Journal of Cleaner Production*, 86, 24-36.
- Alshididi, S. S. B., Al-Mashhadani, M. K. H., and Abed, I. J., 2024.** Wastewater treatment by the cyanobacterium species: *Synechococcus elongatus* as biosorption material for Pb, Cr and Ni heavy metals. *Asian Journal of Water, Environment and Pollution*.
- Ayangbenro, A., and Babalola, O., 2017.** A new strategy for heavy metal polluted environments: A review of microbial biosorbents. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(1), 94.
- Chandrashekharaiyah, P. S., Sanyal, D., Dasgupta, S., and Banik, A., 2021.** Cadmium biosorption and biomass production by two freshwater microalgae *Scenedesmus acutus* and *Chlorella pyrenoidosa*: An integrated approach. *Chemosphere*, 269, 128755. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128755>
- Duque, D., Montoya, C., and Botero, L. R., 2019.** Cadmium (Cd) tolerance evaluation of three strains of microalgae of the genus *Ankistrodesmus*, *Chlorella* and *Scenedesmus*. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, 92, 88–97. <https://doi.org/10.17533/udea.redin.20190523>
- Dzizi, S., Chaib, N., Noune, F., Kaddeche, H., & Charchar, N., 2022.** Removal of cadmium from industrial wastewater using blue-green and green microalgae (*Aphanocapsa zandardinii* and *Chlorella vulgaris*). *Desalination and Water Treatment*, 273, 139–148. <https://doi.org/10.5004/dwt.2022.28858>
- Ferreira, L. S., Rodrigues, M. S., Carvalho, J. C. M., Lodi, A., Finocchio, E., Perego, P., and Converti, A., 2011.** Adsorption of Ni^{2+} , Zn^{2+} and Pb^{2+} onto dry biomass of *Arthrospira (Spirulina) platensis* and *Chlorella vulgaris*. I. Single metal systems. *Chemical Engineering Journal*, 173(2), 326–333
- Leong, Y. K., and Chang, J. S. 2020.** Bioremediation of heavy metals using microalgae: Recent advances and mechanisms. *Bioresource Technology*, 303, 122886. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122886>
- Ren, H.-Y., Liu, B.-F., Kong, F., Zhao, L., Xie, G.-J., and Ren, N.-Q., 2014.** Enhanced lipid accumulation of green microalga *Scenedesmus* sp. by metal ions and EDTA addition. *Bioresource Technology*, 169, 763-767.
- Saavedra, R., Muñoz, R., Taboada, M. E., Vega, M., and Bolado, S., 2018.** Comparative uptake study of arsenic, boron, copper, manganese and zinc from water by different green microalgae. *Bioresource Technology*, 263, 49–57.
- Sili, C., Torzillo, G., and Vonshak, A., 2012.** *Arthrospira (Spirulina)*. In *Ecology of Cyanobacteria II* (pp. 677-705). Springer.
- Singh, N., Gupta, G., Upadhyay, A., and Rai, U., 2019.** Biological wastewater treatment for prevention of river water pollution and reuse: Perspectives and challenges. In *Water Conservation, Recycling and Reuse: Issues and Challenges* (pp. 81-93). Springer.
- Singh, P., Guldhe, A., Kumari, S., Rawat, I., and Bux, F., 2016.** Combined metals and EDTA control: An integrated and scalable lipid enhancement strategy to alleviate biomass constraints in microalgae under nitrogen limited conditions. *Energy Conversion and Management*, 114, 100-109.
- Silva-Benavides, A. M., Jiménez-Conejo, N., Solís-Calderón, C., & Arias-Barrantes, B., 2025.** Preliminary study on the arsenic removal capacity of native Costa Rican microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus dimorphus* (Chlorophyceae). *Revista de Biología Tropical*, 73(Suppl. 1), e64045. <https://doi.org/10.15517/rev.biol.trop.v73is1.64045>
- Wang, M., Gui, H., Chen, J., Li, C., Wang, C., Chen, C., Zhao, C., and Li, Y., 2022.** Experimental study on removal of iron, manganese and copper from water by microalgae. *Polish Journal of Environmental Studies*, 31(2), 1847–1855. <https://doi.org/10.15244/PJOES/142483>

Bioremediation of Heavy Metals from Hospital Wastewater Using a Combined EDTA and *Arthrospira platensis* Approach

Ghavabeshi, H.¹
Masoomizadeh, S.Z.^{1*}

*1. Department of biological sciences
and technologies, Ahv. C., Islamic
Azad University, Ahvaz, Iran.*

*Corresponding author:
Zahramasoomi@iaua.ac.ir

Received date: **January/07/2026**
Accepted date: **July/29/2026**

Abstract

Hospital wastewater contains high concentrations of heavy metals and organic compounds, posing a serious threat to the environment. The aim of this study was to evaluate the efficiency of the microalga *Arthrospira platensis* in the presence of different concentrations of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) as a chelating agent for the removal of heavy metals, including lead (Pb), cadmium (Cd), iron (Fe), and arsenic (As), from hospital wastewater. The experiment was conducted in a completely randomized design with five EDTA treatments (0.01, 0.02, 0.04, 0.08, and 0.12 g L⁻¹) in addition to a control, with three replicates. Cultures were maintained at 25 ± 1 °C under a 16:8 h light: dark photoperiod. Heavy metal concentrations were determined on days 1, 3, 6, 9, and 12 after inoculation. Data were analyzed using analysis of variance (ANOVA), and treatment means were compared using the least significant difference (LSD) test at the 5% probability level. The results showed that heavy metal removal was significantly affected by both EDTA concentration and contact time (P < 0.05). Cultivation of *A. platensis* in all EDTA-containing treatments resulted in significantly greater removal of Pb, Cd, Fe, and as than the control (P < 0.05). For all four metals, the residual concentrations decreased progressively from day 1 to day 12, with the highest removal efficiencies observed on the final sampling day. Increasing the EDTA concentration further enhanced metal removal, and the highest EDTA treatments (0.08 and 0.12 g L⁻¹) generally exhibited the lowest residual metal concentrations. Comparison among the four metals revealed distinct removal patterns and significant differences among treatments, indicating that the chemical characteristics of each metal influenced the removal efficiency. These findings demonstrate that extending the contact time and applying appropriate EDTA concentrations can significantly improve the heavy metal removal capacity of *A. platensis*. Overall, the combined application of *Arthrospira platensis* and EDTA represents an effective and environmentally friendly approach for reducing heavy metal concentrations in hospital wastewater and has considerable potential for improving bioremediation processes.

Keywords: Bioremediation, *Arthrospira platensis*, EDTA, heavy metals, Lead (Pb), Cadmium (Cd), Iron (Fe), Arsenic (As), Hospital wastewater.