Применение иммобилизованных клеток микроводорослей для очистки сточных вод

Амери М.¹, Хавари-Неджд Р.А.¹, Солтани Н.², Наджафи Ф.¹, Багери А.³

¹ Отделение науки о растениях, факультет биологических наук, Университет Харазми, Тегеран, Иран

² Кафедра микробиологии нефти, НИИ прикладных наук, ACECR, Тегеран, Иран

³ Сельскохозяйственный факультет Мешихедского университета имени Фердоуси, Мешихед, Иран

ma.ameri65@gmail.com

Реферат

Представлены результаты изучения возможности применения штамма локальной микроводоросли в свободной и иммобилизованной формах для очистки исходных и разбавленных промышленных сточных вод. Применение микроводорослей в качестве абсорбентов способствует достижению двойной цели – очистке сточных вод и производству биомассы, и является реальным способом уменьшения экологических проблем. Для иммобилизации клеток использовали несколько вариантов альгинатной матрицы со сшивающими агентами на основе хлорида бария или кальция с добавлением других полимеров (хитозан, метилцеллюлоза, ПВП) и CaCO_3 . По данным спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой и измерения химической потребности в кислороде, клетки водорослей в обеих формах способны поглощать органические вещества и ионы металлов. Установлено, что использование иммобилизованной формы микроводорослей обеспечивает накопление биомассы и хелатирование альгината в ионах металлов за более короткое время по сравнению со свободной формой.

К л ю ч е в ы е с л о в а : альгинат, иммобилизованные клетки, микроводоросли, свободные клетки, сточные воды, фикоремедиация

Введение

Согласно литературным данным, в период с 1987 по 2003 гг. в мире в среднем потреблялось 665 млрд кубометров воды в год (Cai et al., 2013). Промышленный сектор экономики является источником разнообразных загрязняющих веществ, таких, например, как тяжелые металлы. Попадая в

© Амери М., Хавари-Неджд Р.А., Солтани Н., Наджафи Ф., Багери А., 2020

в окружающую среду, они вызывают серьезный экологический кризис, особенно в развивающихся странах. Попадание стоков предприятий различных отраслей промышленности, содержащих такие тяжелые металлы, как Cu, Zn, Ni, Pb, Cd и Cr, в грунтовые и поверхностные воды представляет серьезную угрозу для здоровья людей (Sivakumar, 2015). Это вызывает серьезную обеспокоенность ученых и диктует необходимость поиска дополнительных методов очистки воды.

Для очистки промышленных сточных вод, содержащих такие загрязнители, как тяжелые металлы, традиционные методы химического осаждения, включая ионный обмен, осаждение известью, мембранное разделение и испарение, являются дорогостоящими и часто неэффективными, особенно при концентрациях этих веществ ниже 50 мг·л⁻¹. Новые методы должны быть экологически чистыми и экономически эффективными. В последние два десятилетия значительное внимание уделялось использованию методов биоремедиации для удаления тяжелых металлов. Среди различных методов биоремедиации фиторемедиация оказалась наиболее приемлемой для поглощения тяжелых металлов и накопления питательных веществ (Dwivedi, 2012). Так, биомассу, полученную в результате очистки сточных вод, используют как сырье для получения биотоплива (Han et al., 2007; Dwivedi, 2012; Yilleng et al., 2013).

Живые и неживые клетки водорослей способны поглощать тяжелые металлы в активной и пассивной форме соответственно. Кроме того, некоторые метаболиты водорослей, например альгинат, эффективны в биосорбции тяжелых металлов. Для процессов детоксикации или рециркуляции сточных вод, содержащих тяжелые металлы в очень низких концентрациях, было предложено использовать клетки иммобилизованных метаболически активированных микроводорослей. В этом случае большая часть металлов связывается с поверхностью живых или мертвых водорослей, большинство этих соединений разлагается и может быть переработано путем кислотной обработки (de-Bashan, Bashan, 2010). Выбор матрицы иммобилизации микроводорослей является ключевым фактором в процессе абсорбции (Pandey et al., 2007). Наиболее часто для этого процесса используют природные полимеры – альгинат и каррагенан. Хотя эти природные полимеры менее устойчивы в сточных водах, чем искусственные альгинаты, они более безопасны для здоровья человека, широко доступны, проницаемы и недорогие. Также они могут поддерживать иммобилизованную клетку в стабильном состоянии при различных стрессах (de-Bashan, Bashan, 2010).

Основными объектами комплексной очистки сточных вод являются нутриенты (NO_3 , NO_2 , NH_4 и PO_4), колиформные бактерии и токсические соединения. Кроме того, в системе очистки сточных вод снижаются биохимическая (БПК) и химическая (ХПК) потребность в кислороде взвешенных веществ. БПК связана со способностью микроорганизмов окислять органическое вещество до CO_2 с использованием молекулярного кислорода в качестве окислителя. Избыточное органическое вещество может поглощать растворенный кислород и вызывать гибель рыб и других

аэробных организмов. Поэтому снижение БПК является приоритетом в очистке сточных вод (Abdel-Raouf et al., 2012). Микроводоросли способны уменьшать количество органических веществ и увеличивать содержание кислорода в сточных водах для последующего снижения БПК или ХПК.

Цель данного исследования – изучить возможность использования свободных и иммобилизованных клеток локальных микроводорослей в качестве дополнительного метода очистки промышленных сточных вод.

Материалы и методы

Культуры микроводорослей и подготовка сточных вод

Штамм *Scenedesmus* spp. был выделен из промышленной зоны Мешхед, Иран (36°13'28.3"N 59°55'00.8"E), культивировался на питательной среде Болда (BBM) при 25 °С, режиме освещения 16 : 8 (день : ночь) и постоянной аэрации. Для изучения фактической очистки сточных вод использовали свежую биомассу в виде свободных и иммобилизованных клеток микроводоросли.

Сточные воды были собраны в ноябре и феврале 2015 г. также в промышленной зоне Мешхед, Иран (36°13'28.3"N 59°55'00.8"E). Образцы стоков для измерения ХПК отбирали в сосуды из темного стекла в стандартных условиях и отправляли в Центральную лабораторию Университета Фердоуси. Для получения прозрачных сточных вод без осадка, их хранили в прохладном темном месте в течение 48 ч для осаждения отложений. Через 48 ч в экспериментах использовали исходные (неразбавленные) сточные воды (НС) и разбавленные до 25% сточные воды (РС). Количественные данные были подвергнуты одностороннему статистическому анализу ANOVA с использованием теста Дункана, SPSS 17,0.

Подготовка абсорбентов

В исследовании использовали три варианта биосорбента: свободные клетки штамма *Scenedesmus* spp. (СК), иммобилизованные клетки *Scenedesmus* spp. (ИК) и альгинатный матрикс без клеток микроводоросли (АМ). Для приготовления однородной суспензии 2%-ный Na-альгинат перемешивали в течение 1 ч при 70 °С. Гранулы сшивали в 2%-ных растворах BaCl₂ (далее Ba-гранулы) или CaCl₂ (далее Ca-гранулы) в течение 24 ч. Полученные гранулы обрабатывали 0,85%-ной NaCl и хранили в дистиллированной воде.

Для определения устойчивости гранул в однородную суспензию 2%-го Na-альгината добавляли по 1% отдельно CaCO₃, хитозан, ПВП и метилцеллюлозу, затем вводили биомассу водорослей и проводили титрование в сшивающих растворах. Помимо внутреннего применения полимеров, их использовали для покрытия гранул. Для этого гранулы инкубировали в течение 24 ч в растворах 1%-го хитозана, 20%-го ПВП и метилцеллюлозы, затем хранили в дистиллированной воде до проведения эксперимента.

Детали эксперимента

Концентрация свободных клеток водорослей, вносимых при каждом варианте обработки, составляла $1 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$, а отношение гранул к сточным водам – 4% (об./об.). Все эксперименты по изучению стабильности различных гранул и жизнеспособности клеток *Scenedesmus* проводили с использованием неразбавленных (НС) и разбавленных (РС) сточных вод. Для этого была отобрана самая устойчивая из иммобилизованных структур, из которой в среду высвобождалось наименьшее количество клеток водорослей. Для изучения изменений в составе сточных вод свободные и иммобилизованные клетки водорослей, а также пустые гранулы помещали на 5 сут в НС и РС в условия непрерывной аэрации и освещения (24 ч). На 2-е и 5-е сут эксперимента состав среды исследовали методом спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой.

Результаты

Устойчивость гранул в сточных водах

Для большинства иммобилизованных структур размер гранул в неразбавленных стоках уменьшался (рис. 1). В процессе обработки НС водоросли высвобождались из гранул, изменяя окраску гранул и стоков на белую и зеленую соответственно.

Рис. 1. Изменения структуры водорослевых гранул после обработки неразбавленными сточными водами. Варианты обработки приведены в таблице

Вероятно, сточные воды содержат соединения или ионы, вызывающие ослабление альгинатно-водорослевых связей. Гранулы, сшитые в 2%-ном растворе BaCl_2 , менее подвержены разрушению по сравнению с гранулами из раствора CaCl_2 .

С добавлением хитозана увеличивалась стабильность гранул, особенно при его внутреннем применении. По-видимому, этот полимер является ингибитором роста водорослей. После обработки НС хитозановые гранулы вновь стали зелеными (см. рис. 1). Другие полимеры не влияли на стабильность гранул, тогда как гранулы, в состав которых входил CaCO_3 , демонстрировали значительную стойкость к обработке сточными водами. Ва- и Са-гранулы без дополнительного полимера, содержащие карбонат кальция, образовывали в сточных водах наиболее стойкие структуры и имели наименьший процент высвобождения клеток водорослей в среду.

Влияние концентрации сточных вод на рост водорослей

Неразбавленные стоки из-за их состава и мутности оказались неблагоприятной средой для роста свободных клеток *Scenedesmus* spp., в то время как иммобилизованные клетки микроводоросли испытывали меньшее влияние НС. В РС клетки *Scenedesmus* spp. поглощали питательные вещества как в иммобилизованном, так и в свободном виде, в результате цвет среды становился темно-зеленым. Микроводоросли на разбавленных стоках росли лучше, чем на неразбавленных, особенно после лаг-фазы (первые 2 дня). Рост водорослей в иммобилизованных структурах является убедительным показателем поглощения питательных веществ из сточных вод (рис. 2, 3).

Рис. 2. Водорослевые гранулы после 5 сут обработки. Слева направо: контроль, РС и НС

Изменение химического состава сточных вод

При обработке сточных вод в течение 5 сут водорослевыми Ва-гранулами с добавлением CaCO_3 изменялась концентрация 9 доминирующих элементов. Измерения проводили на 2-е и 5-е сут эксперимента методом спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (табл. 1).

Интересный момент, связанный с выделением Ва, был отмечен при инкубировании иммобилизованных структур, особенно водорослевых гранул, в разбавленных сточных водах. В первые двое суток обработки наблюдалось взрывное (более чем в 80 раз) выделение Ва, ослабевавшее в последующие дни. В неразбавленных стоках также отмечалось высвобождение бария, но в меньшей степени, чем в РС. Свободные клетки рядом с альгинатной матрицей демонстрировали способность к сорбции Ва.

Таблица 1. Изменения в составе сточных вод после 2 и 5 суток обработки различными биосорбентами в условиях непрерывной аэрации и освещения при 25 °С

Тип биосорбента	Концентрация элементов в исходных сточных водах (мг · л ⁻¹)																	
	Ba (0,53)		Ca (26,21)		K (176,55)		Li (0,22)		Mg (37,50)		P (1,63)		Cr (0,70)		Fe (0,19)		Pb (0,0087)	
	% удаления																	
Свободные клетки в неразбавленных стоках	2 сут	5 сут	2 сут	5 сут	2 сут	5 сут	2 сут	5 сут	2 сут	5 сут	2 сут	5 сут	2 сут	5 сут	2 сут	5 сут	2 сут	5 сут
	0	68	3	40	16	23	1	5	0	3	27	69	14	13	16	22	43	5
Водорослевые гранулы в неразбавленных стоках	-150	-170	6	55	19	19	8	16	1	2	76	67	45	28	44	46	43	43
Пустые гранулы в неразбавленных стоках	–	-197	–	44	–	23	–	8	–	4	–	69	–	34	–	43	–	43
Свободные клетки в разбавленных стоках	76	76	-62	39	88	88	58	54	28	30	94	93	76	76	80	87	HO	HO
Водорослевые гранулы в разбавленных стоках	-8600	-3339	-85	-35	88	89	47	54	42	44	96	95	86	87	89	91	HO	HO
Пустые гранулы в разбавленных стоках	–	-5004	–	-45	–	89	–	66	–	46	–	94	–	87	–	87	–	HO

НО – не обнаруживается.

Увеличение концентрации Са в РС, особенно в первые двое суток, может быть связано с его присутствием в водопроводной воде, а также с выделением Са из CaCO_3 , находящегося в гранулированных структурах. Клетки водорослей способствовали абсорбции Са как в свободной, так и иммобилизованной форме. После 5 дней обработки неразбавленными стоками отмечалась более активная по сравнению с РС резорбция Са свободными клетками водорослей и альгинатными гранулами.

Рис. 3. Рост водорослей после 5 сут обработки (нижний ряд) разбавленными (1–4: СК, АМ и ИК) и неразбавленными (5–8: СК, АМ, ИК) сточными водами. Контроль без абсорбентов

Адсорбция Cr, K, Li, Mg, P и Fe показала некоторые изменения уже через 2 сут, существенное снижение загрязнения этими элементами было обнаружено в РС с гранулами.

Спектроскопия с индуктивно-связанной плазмой не выявила свинца в РС, а в НС через 2 сут его количество уменьшилось на 43%.

Таблица 2. Изменения химического потребления кислорода (ХПК) различными биосорбентами через 5 сут эксперимента со сточными водами при продолжающейся аэрации и освещении (t 25 °C)*

Вариант обработки	ХПК, мг·л ⁻¹
Исходные стоки	4200
Аэрированные стоки (контроль)	630 ^a
Иммобилизованные клетки <i>Scenedesmus</i> spp. (4% об./об.)	375 ^b
Пустая альгинатная матрица (4% об./об.)	615 ^a
Свободные клетки <i>Scenedesmus</i> spp. (1 г·л ⁻¹)	615 ^a

* Значение $p < 0,05$ предполагалось для значительного различия в тесте Дункана.

В целом, для большинства упомянутых ионов металлов, кроме Са и Ва, можно считать, что 2-дневная очистка снижает загрязняющую нагрузку неразбавленных сточных вод.

Результаты очистки сточных вод с использованием Ва-гранул с добавлением CaCO_3 показали, что процесс аэрации способен значительно снизить ХПК за 5 дней. Помимо аэрации, обработка водорослевыми гранулами также может снизить ХПК, поглощая питательные вещества из сточных вод на 40% по сравнению с аэрированным образцом. Рост водорослей в иммобилизованных и свободных клетках зависит от поглощения питательных веществ, которыми богаты сточные воды (табл. 2).

Обсуждение

Сточные воды, сбрасываемые горнодобывающими и металлургическими предприятиями, кожевенными заводами, образующиеся в результате производства электроэнергии, электронных устройств и т.п., содержат различные металлы в концентрациях, превышающих местные стандарты сброса. В их состав входят также тяжелые металлы: Cr, Cd, Pb, Hg, Ni и Cu (Owlad et al., 2009). Для их извлечения необходима специальная обработка. Исследования показали перспективность использования биоадсорбентов для удаления тяжелых металлов (Han et al., 2007; Yilleng et al., 2013).

Многие виды водорослей (в виде живой и неживой биомассы) способны поглощать значительное количество тяжелых металлов из разных сред. Их извлечение происходит за счет различных механизмов секвестрации, зависящих от того, в каком виде используются клетки водорослей (живые или неживые, свободные или иммобилизованные), свойств металла и факторов окружающей среды (Abdel-Raouf et al., 2012). Удаление тяжелых металлов осуществляется микроводорослями в двухфазном процессе. В первой фазе наблюдается неметаболический, быстрый процесс, происходящий как в живых, так и в неживых клетках, в то время как во второй фазе абсорбция осуществляется за счет накопления ионов металла внутри клетки. В этой фазе отмечается активная транспортировка и медленный процесс (Ким, 2011). Альгинат – метаболит водорослей вводится в качестве биосорбента, связывающего металл с его функциональной группой пассивным быстрым способом. В нашем исследовании было показано, что в первый час максимальное поглощение происходит за счет Ва. Кроме того, биоаккумуляция *Scenedesmus* spp. повышает потенциал водорослевых гранул в восстановлении металлов.

Среди биоадсорбентов *Chlorophyta* рассматриваются как перспективный объект благодаря особой природе их абсорбции и высокому соотношению поверхности к объему (Han et al., 2007). Также отмечена биоабсорбция *Phaeophyta*. В их клеточных стенках присутствует альгинат, имеющий в функциональных группах карбоновые кислоты, такие как глюкуроновая и маннороновая (Mahmoud, Mohamed, 2017), способные связывать металлы с помощью сложных электростатических взаимодействий (Haug, 1961; Papageorgiou et al., 2006; Patricia Blanes et al., 2011).

Способность альгинатных гранул связывать металлы была описана следующим образом: $Pb > Cu > Cd > Ba > Sr > Ca > Co > Ni > Mn > Mg$ (Haug, 1961; Papageorgiou et al., 2006). Также сообщалось о высоком проценте поглощения хрома (86%) по сравнению со свинцом (57%) и медью (64%) (Pandey et al., 2007). С помощью различных методов было показано, что за связывание металлов ответственны функциональные группы на альгинатно-кальциевых гранулах (в т.ч. $C-O-R$ и $COO-1$). Удаление свинца осуществляется путем обмена ионов кальция, а для меди – посредством ионного обмена и взаимодействием с другими функциональными группами (Chen et al., 2002).

Обработка водорослевых гранул сточными водами (как исходными, так и разведенными) приводила к различным последствиям – разрушению гранул, выбросу водорослей в среду и росту водорослей как в свободной, так и в иммобилизованной форме. Кальциево-альгинатные гранулы полностью разрушались при воздействии хелаторов, таких как фосфатные, лактатные, цитратные или негелевые катионы, ионы натрия или марганца. Обмен этих факторов с кальцием в структуре альгината приводил к деградации структуры гранул (Gåserød et al., 1999).

В нашем исследовании для повышения стабильности альгинатных гранул были использованы сшивающие агенты с добавлением других солей и полимеров. Сходные результаты были получены Ibáñez, Umetsu (2002), которые показали, что бивалентные ионы бария более успешны для иммобилизации альгинатных структур, чем кальций. Кроме того, покрытие альгинатно-кальциевых микрокапсул различными поликатионами осуществляется для различных целей. Так, связывание и иммобилизация альгинатных поликатионных капсул зависит от комбинации альгинатного геля, молекулярной массы, гибкости и плотности поликатиона (Gåserød et al., 1999). Наши исследования показали, что при добавлении хитозана внутрь стабильность гранул повышается по сравнению с его наружным применением. Установлено, что иммобилизация альгинат-хитозановых капсул зависит от количества хитозана, связанного с капсулами (Ibáñez, Umetsu, 2002). Такие же результаты, как и при добавлении слоев хитозана к альгинатным ядрам, описаны при получении капсул с более высокой устойчивостью и меньшей проницаемостью (Gåserød et al., 1999).

В нашем исследовании микроводоросли, как свободные, так и иммобилизованные, хорошо росли в разбавленных сточных водах, что указывает на поглощение ими питательных веществ, а также ионов металлов из среды. Существуют различные мнения по этому поводу. В некоторых сообщениях был показан более высокий потенциал поглощения металлов свободными водорослями по сравнению с иммобилизованными (Mehta, Gaur, 2005), в других (Petrovič, Simonič, 2016) – именно иммобилизованные клетки водорослей успешно поглощали тяжелые металлы. По данным Al-Rub et al. (2004), как и в нашем исследовании, присутствие водорослей в альгинатной матрице увеличивало скорость поглощения тяжелых металлов и усиливало иммобилизацию стабилизирующих структур. Rangsayatorn с соавт. (2004)

заявили, что причиной снижения способности сорбции металла иммобилизованной клеткой могут быть изменения в структуре клеточной стенки во время иммобилизации. Возможно, часть поверхности клеточной стенки защищена от связывания металла, будучи недоступной для участков, образующих матрицу геля.

Поглощение отдельных металлов биомассой водорослей более изучено, чем одновременное поглощение нескольких металлов, особенно из неочищенных сточных вод. Наличие различных металлов позволяет получить интересные результаты относительно физиологических и биохимических процессов, таких как рост и поглощение металлов различными микроорганизмами. Конкуренция за занятость активных центров в мультиметаллическом растворе существенно отличается по сравнению с поглощением отдельных металлов. Например, в бинарном растворе Cd и Fe мешали друг другу в процессе их поглощения клетками *Sargassum* sp. (Mehta, Gaur, 2005), а также сорбции Cd, Ni и Cu клетками *Chlorella sorokiniana*, иммобилизованными альгинатом (Petrovič, Simonič, 2016). Металлы различаются в зависимости от их способности препятствовать сорбции других металлов (Mehta, Gaur, 2005).

В большинстве случаев поглощающая способность биосорбента в присутствии нескольких двухвалентных металлов ниже, чем для отдельного металла, поскольку в таких растворах металлы оказывают ингибирующее воздействие на связывание других металлов. Показано, что конкуренция за одни и те же активные сайты связывания в клеточной стенке водорослей приводит к снижению поглощения (da Costa, Leite, 1991; Mehta, Gaur, 2001). Например, ингибирование поглощения никеля медью намного сильнее, чем ингибирование поглощения меди никелем в клетках *Chlorella vulgaris*. На примере *Spirogyra* было показано, что ингибирование абсорбции меди свинцом намного сильнее, чем обратная реакция (Mehta, Gaur, 2005). При этом металлы могут оказывать синергетическое влияние на поглощение друг друга, например те, что отмечены при поглощении хрома и кадмия клетками *Scenedesmus* (Pena-Castro et al., 2004).

Наши данные свидетельствуют о значительном снижении сорбции металлов по сравнению с предыдущим исследованием раствора с одним металлом. Результаты ХПК показали извлечение питательных веществ и рост водорослей. Они могут быть более эффективными в РС, чем в НС, поскольку большое разнообразие состава неочищенных стоков препятствует росту водорослей, особенно в свободной форме. Разбавление сточных вод может обеспечить хорошие условия для роста и развития микроводорослей как в свободной, так и в иммобилизованной форме.

Заключение

Использование водорослевых Ва-гранул, содержащих CaCO_3 , способствовало лучшему накоплению биомассы и большей эффективности очистки сточных вод. Хотя в первые двое суток эксперимента поглощение ионов металлов было насыщенным, улучшение роста водорослей на 5-е сут

свидетельствовало об уменьшении содержания органических веществ или ХПК. Мы предложили обрабатывать промышленные сточные воды с помощью иммобилизованных микроводорослей до их объединения с другими отходами для более эффективного использования в меньшем количестве сточных вод.

Это исследование было поддержано Тегеранским университетом Харазми и выполнено в Академическом центре образования, культуры и исследований (ACECR) Института исследований промышленной биотехнологии, Мешхед, Иран.

REFERENCES

- Abdel-Raouf N., Al-Homaidan A., Ibraheem I. 2012. Microalgae and wastewater treatment. *Saudi J. Biol. Sci.* 19(3): 257–275.
- Al-Rub F.A., El-Naas M., Benyahia F., Ashour I. 2004. Biosorption of nickel on blank alginate beads, free and immobilized algal cells. *Proc. Biochem.* 39(11): 1767–1773.
- Cai T., Park S.Y., Li.Y. 2013. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: status and prospects. *Renew. and Sust. Energy Rev.* 19: 360–369.
- Chen J.P., Hong L., Wu S., Wang L. 2002. Elucidation of interactions between metal ions and Ca alginate-based ion-exchange resin by spectroscopic analysis and modeling simulation. *Langmuir.* 18(24): 9413–9421.
- da Costa A.C.A., Leite S.G.F. 1991. Metals biosorption by sodium alginate immobilized *Chlorella homosphaera* cells. *Biotech. Lett.* 13(8): 559–562.
- De-Bashan L.E., Bashan Y. 2010. Immobilized microalgae for removing pollutants: review of practical aspects. *Biores. Techn.* 101(6): 1611–1627.
- Dwivedi S. 2012. Bioremediation of heavy metal by algae: current and future perspective. *J. Adv. Lab. Res. Biol.* 3(3): 195–199.
- Gåserød O., Sannes A., Skjåk-Bræk G. 1999. Microcapsules of alginate–chitosan. II. A study of capsule stability and permeability. *Biomaterials.* 20(8): 773–783.
- Han X., Wong Y.S., Wong M.H., Tam N.F.Y. 2007. Biosorption and bioreduction of Cr(VI) by a microalgal isolate, *Chlorella miniata*. *J. Hazard. Mat.* 146(1–2): 65–72.
- Haug A. 1961. Affinity of some divalent metals to different types of alginates. *Acta Chem. Scand.* 15: 1794–1795.
- Ibáñez J.P., Umetsu Y. 2002. Potential of protonated alginate beads for heavy metals uptake. *Hydrometallurgy.* 64(2): 89–99.
- Kim S.K. 2011. *Handbook of marine macroalgae: biotechnology and applied phycology*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd. Pp. 424–430.
- Mahmoud M., Mohamed S.A. 2017. Calcium alginate as an eco-friendly supporting material for Baker's yeast strain in chromium bioremediation. *HBRC J.* 13(3): 245–254.
- Mehta S., Gaur J. 2005. Use of algae for removing heavy metal ions from wastewater: progress and prospects. *Crit. Rev. Biotechnol.* 25(3): 113–152.
- Mehta S.K., Gaur J.P. 2001. Removal of Ni and Cu from single and binary metalsolutions by free and immobilized *Chlorella vulgaris*. *Europ. J. Protistol.* 37(3): 261–271.
- Owlad M., Aroua M.K., Daud W.A.W., Baroutian S. 2009. Removal of hexavalent chromium-contaminated water and wastewater: a review. *Water, Air, and Soil Pollut.* 200(1–4): 59–77.

- Pandey A., Bera D., Shukla A., Ray L. 2007. Studies on Cr(VI), Pb(II) and Cu(II) adsorption-desorption using calcium alginate as biopolymer. *Chem. Spec. & Bioavailab.* 19(1): 17–24.
- Papageorgiou S.K., Katsaros F.K., Kouvelos E.P., Nolan J.W., Le Deit H., Kanellopoulos N.K. 2006. Heavy metal sorption by calcium alginate beads from *Laminaria digitata*. *J. Hazard. Mat.* 137(3): 1765–1772.
- Patricia Blanes C.C., Adriana Cortadi, María Frascaroli, Martha Gattuso, Silvia García, Juan González, Masafumi Harada, Cristina Matulewicz, Yasuhiro Niwa, Héctor Prado, Luis Sala. 2011. Biosorption of trivalent chromium from aqueous solution by red seaweed *Polysiphonia nigrescens*. *J. Water Res. and Protect.* 3(11): 12.
- Pena-Castro J., Martínez-Jerónimo F., Esparza-García F., Canizares-Villanueva R. 2004. Heavy metals removal by the microalga *Scenedesmus incrassatulus* in continuous cultures. *Biores. Technol.* 94(2): 219–222.
- Petrovič A., Simonič M. 2016. Removal of heavy metal ions from drinking water by alginate-immobilised *Chlorella sorokiniana*. *Int. J. Environ. Sci. and Technol.* 13(7): 1761–1780.
- Rangsayatorn N., Pokethitiyook P., Upatham E., Lanza G. 2004. Cadmium biosorption by cells of *Spirulina platensis* TISTR 8217 immobilized in alginate and silica gel. *Environ. Int.* 30(1): 57–63.
- Sivakumar D. 2015. Hexavalent chromium removal in a tannery industry wastewater using rice husk silica. *Global J. Environ. Sci. and Manag.* 1(1): 27–40.
- Yilleng M., Gimba C., Ndukwe I., Nwankwere E. 2013. Adsorption of hexavalent chromium from aqueous solution by granulated activated carbon from *Canarium schweinfurthii* seed shell. *Adv. Appl. Sci. Res.* 4(3): 89–94.

Поступила 05.09.2019

Подписала в печать Н.И. Кирпенко

Ameri M.¹, Khavari-Nejad R.A.¹, Soltani N.², Najafi F.¹, & Bagheri A.³

¹ Department of Plant Science, Faculty of Biological Science, Kharazmi University, Tehran, Iran

² Department of Petroleum Microbiology, Research Institute of Applied Science, ACECR, Tehran, Iran

³ Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Application of immobilized microalgae for native wastewater treatment

Using bio-absorbents for treating industrial and domestic wastewater research have been recently increased. The dual application of microalgae for wastewater treatment and biomass production is a feasible way to reduce environmental problem. In this regard, the use of local microalgae in free and immobilized forms in native and diluted industrial wastewater was investigated. Immobilization was studied in alginate matrix, together with barium or calcium chloride cross link agents with other polymers and salts (chitosan, methyl cellulose, PVP, and CaCO₃). Algae in both forms showed capability of absorption of nutrients and metal ions according to ICP and COD measurement. The results showed that using the immobilized form is superior due to the ease of harvest and possibility of alginate in metal ions' chelation in a short time in comparison with free form.

Key words: alginate, free and immobilized microalgae, phycoremediation, wastewater