

بررسی تأثیر عامل‌های عملیاتی بر عملکرد حسگر زیستی در اندازه‌گیری BOD

بهنام مهدوی^۱، حمید زیلوئی^{۲*} و نوراالله میرغفاری^۳

۱- کارشناس ارشد مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- استادیار بیوتکنولوژی محیط زیست، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دانشیار گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

دریافت: اسفند ۱۳۹۰، بازنگری: تیر ۱۳۹۱، پذیرش: مرداد ۱۳۹۱

چکیده: یک حسگر زیستی بر پایه سلول‌های میکروبی برای اندازه‌گیری BOD پساب‌های صنعتی و شهری طراحی و بهینه شد. شرایط عملیاتی در حین اندازه‌گیری BOD نمونه‌ها، تأثیر زیادی بر نتیجه‌های حسگر داشته و انتخاب مناسبترین مقادیر برای شرایط عملیاتی و عامل‌های مؤثر بر عملکرد حسگر زیستی BOD برای دسترسی به یک اندازه‌گیری صحیح، بسیار ضروری است. در ساختار این حسگر از یک سلول کلارک به‌عنوان ترانسفورماتور و از لجن فعال تهیه شده از تصفیه‌خانه‌ی آب و فاضلاب شاهین شهر اصفهان به‌عنوان شناساگر زیستی حسگر استفاده شد. تأثیر عامل‌های حجم لجن فعال تثبیت شده بر روی حسگر، pH سیال حامل، شدت جریان سیال حامل و حجم تزریق نمونه اندازه‌گیری بر عملکرد حسگر بررسی و با تحلیل نتیجه‌های به دست آمده مقادیر بهینه برای این عامل‌ها انتخاب شد. مقدار بهینه برای حجم لجن تثبیت شده، pH سیال حامل، شدت جریان سیال حامل و حجم تزریق نمونه به ترتیب برابر ۵۰۰ میکرولیتر، ۷، ۰/۹ میلی لیتر بر دقیقه و ۳ میلی لیتر به‌دست آمدند.

واژه‌های کلیدی: حسگر زیستی، اکسیژن خواهی زیست‌شیمیایی (BOD)، لجن فعال، بهینه سازی پاسخ

مقدمه

روش استاندارد اندازه‌گیری رده‌های آلی قابل تجزیه در نمونه‌های پساب، اندازه‌گیری BOD₅ است. در روش استاندارد اندازه‌گیری BOD، مدت زمان ۵ روز مورد نیاز بوده و از این لحاظ توسعه روش‌های اندازه‌گیری سریع BOD بسیار حائز اهمیت است. مطالعات زیادی برای به دست آوردن روشی که توانایی اندازه‌گیری سریع BOD را داشته باشد صورت گرفته و حسگرهای زیستی با چنین قابلیتی پس از تلاش‌های بسیار طراحی شدند. پس از آن، حسگرهای زیستی^(۲) با قابلیت اندازه‌گیری سریع آلاینده‌ها به شدت مورد توجه قرار گرفتند [۲، ۳ و ۴].

امروزه دستگاه‌های تجزیه گران‌قیمت و پیچیده مانند GC-MS، HPLC، AAS، طیف‌سنج و... موجود هستند که

با توسعه و رشد روز افزون صنایع و افزایش جمعیت جهانی، پساب‌های صنعتی و خانگی افزایش یافته که آلودگی‌های آلی از اجزاء اصلی و اجتناب ناپذیر این پساب‌ها بوده است. امروزه تعیین کیفیت آب از مهمترین جنبه‌های مدیریت پساب و فرایندهای تصفیه آن به حساب می‌آید. اکسیژن خواهی زیست‌شیمیایی (BOD)^(۱) یکی از عامل‌های مورد استفاده و مهم به منظور تعیین آلودگی‌های آلی آب و فاضلاب است. این عامل از طریق اندازه‌گیری اکسیژن مورد نیاز میکروارگانیسم‌های هوازی در حین تجزیه اجزاء آلی تعیین شده و در واقع مقدار BOD بیانگر مقدار مواد آلی قابل تجزیه در نمونه پساب است [۱].

1. Biological oxygen demand

2. Biosensors

و فاضلاب شاهین شهر اصفهان تهیه شد. به منظور تهیه یک مخلوط میکروبی پایدار و یکنواخت، یک مرحله آماده سازی لجن فعال انجام شد. برای این منظور مقدار ۲ لیتر از لجن فعال در یک ظرف به مدت ۳ هفته هوادهی و خوراک دهی شد. هوادهی برای رسیدن اکسیژن مورد نیاز برای رشد میکروب‌ها و در عین حال برای هم زدن محیط کشت برای جلوگیری از ته نشینی میکروب‌ها انجام گرفت. برای هوادهی از یک پمپ هوادهی و برای خوراک دهی از محیط کشت زیر استفاده شد.

محیط کشت مورد نیاز برای خوراک دهی از محلول ترکیبات زیر در یک لیتر آب مقطر تهیه شد: منیزیم سولفات: ۲۰ mg، پتتون: ۱٫۵ g، گلوکز: ۶ g، کلسیم کلراید: ۴۰ mg، دی پتاسیم هیدروژن فسفات: ۲۸۰ mg، سدیم کلراید: ۷۰ mg، عصاره مخمر: ۱٫۱ g. محیط کشت تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد [۵ و ۶].

محلول استاندارد BOD

از محلول گلوکز و گلوتامیک اسید^(۱۰) به عنوان محلول استاندارد استفاده شد. برای ساخت این محلول مقدار ۱۵۰ میلی گرم از گلوکز و ۱۵۰ میلی گرم گلوتامیک اسید در یک لیتر آب مقطر حل شد. مقدار BOD این محلول براساس روش استاندارد BOD₅ برابر ۲۰۰±۵ mg O₂/L است. این محلول تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد [۷ تا ۱۰].

بافر فسفاتی

بافر فسفاتی نقش سیال حامل را ایفا می‌کند که یکی از اجزاء سامانه تجزیه تزریق جریان به حساب می‌آید. سیال حامل می‌بایست به گونه‌ای انتخاب شود که هیچ‌گونه برهم‌کنشی با مواد موجود در سامانه و لجن فعال نداشته باشد [۱۱]. برای سیال حامل از یک بافر فسفاتی استفاده شد. برای این کار، محلول‌های ۱ مولار از پتاسیم دی هیدروژن فسفات و دی پتاسیم هیدروژن

طی یک مرحله تجزیه با پیش فراوری پیچیده و وقت گیر نتیجه‌های مناسبی می‌دهند. اما استفاده از حسگرهای زیستی در مقایسه با روش‌های دیگر دارای مزایایی است که می‌توان به هزینه کم، سرعت پاسخ‌دهی بسیار بالا، قابلیت حمل و استفاده در محل حتی در منازل، شرایط عملیاتی بسیار ساده و حساسیت بالا اشاره کرد. توسعه و کاربرد حسگرهای زیستی به شدت مورد توجه بوده، چرا که در حال حاضر واکنش‌های متفاوت زیست‌شیمیایی به‌طور کامل شناخته شده‌اند و روش‌های تجزیه آن‌ها در دهه‌های اخیر به‌طور کامل توسعه یافته است.

نخستین حسگر BOD بر پایه سلول میکروبی در سال ۱۹۷۷ میلادی توسط کاروب^(۱) مورد استفاده قرار گرفت. وی در طراحی حسگر خود از لجن فعال استفاده کرد [۳ و ۴]. پس از آن، افراد زیادی بر روی حسگرهای BOD با میکروارگانیسم‌های متفاوت کار کرده و در پی ارتقای نتیجه‌های حسگر بوده‌اند. هیکوما^(۲) در سال ۱۹۷۹ میلادی از میکروارگانیسم تریکوسپورون کوتانوم^(۳) در حسگر خود استفاده کرد [۲]. در سال ۱۹۸۰ میلادی، کولیز^(۴) بر روی حسگر BOD با میکروارگانیسم هانسسولا آنامولا^(۵) کار کرد [۴]. کاواباتا^(۶) و ناکامورا^(۷) در سال ۱۹۸۶ میلادی به استفاده از میکروارگانیسم اشرشیا کولی^(۸) در حسگر خود پرداختند [۱]. در سال ۱۹۸۸ از باسیلوس سابتیلیس^(۹) به عنوان شناساگر در حسگر استفاده شد [۱ و ۲]. تمامی این پژوهشگران در پی اندازه‌گیری سریع و در عین حال دقیق BOD پساب‌های متفاوت بوده‌اند و تا امروز حسگرهای زیستی به دلیل سرعت پاسخ‌دهی مناسب در طول سه دهه ارتقاء یافته‌اند.

هدف از این پژوهش، توسعه حسگر زیستی آمپرومتریک و بهینه سازی عامل‌های مؤثر بر کیفیت پاسخ بمنظور اندازه‌گیری BOD نمونه پساب‌های واقعی است. از سامانه تجزیه تزریق جریان برای اندازه‌گیری استفاده شد.

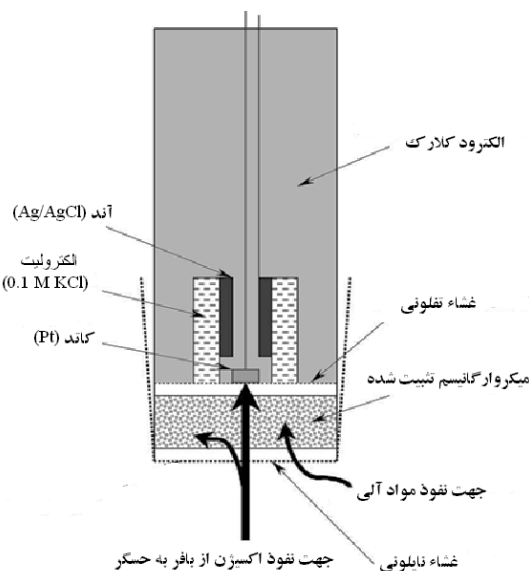
بخش تجربی

لجن فعال و محیط کشت

لجن فعال به عنوان شناساگر زیستی از تصفیه خانه آب

1. Karube	2. Hikuma	3. Trichosporon cutaneum	4. Kulys	5. Hansensula anamola
6. kawabata	7. Nakamura	8. Escherichia coli	9. Bacillus subtilis	10. GGA solution

یک مجرا در بالای سلول برای تزریق الکترولیت تعبیه شد. ساخت سلول کلارک به گونه‌ای انجام شد که هیچ گونه راه نفوذ هوا (جز از طریق غشا) به داخل سلول وجود نداشته باشد. در نهایت از یک غشاء نایلونی استفاده شد. این غشاء که تنها اجازه عبور مواد آلی را از سیال حامل به داخل سلول می‌دهد [۱۲]، در انتهای سلول و بر روی درپوش نصب شد، به گونه‌ای که قابل تعویض است. عمل تثبیت لجن فعال بر روی این غشاء انجام می‌شود. پس از ساخت حسگر، یک سل از جنس شیشه به منظور جاسازی حسگر در آن، ساخته شد. شمایی از این حسگر در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱ اجزاء و ساختار حسگر میکروبی BOD [۸]

روش اندازه‌گیری BOD

برای فرایند اندازه‌گیری BOD از سامانه تجزیه تزریق جریان^(۱) استفاده شد. در ساختار این سامانه از یک پمپ پریستالتیک (401U/DM2, Watson-Marlow, UK)، دستگاه پتانسیواستات (Potentiostat/Galvanostat Model 273, EG&G Instrument)، پمپ هوادهی (Aco-5505 HAILEA) و یک رایانه برای ثبت

فسفات تهیه شده و در نهایت مقدار ۳۸٫۵ میلی‌لیتر از محلول ۱ مولار پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات و ۶۱٫۵ میلی‌لیتر از محلول ۱ مولار دی‌پتاسیم هیدروژن فسفات مخلوط و با آب مقطر به حجم ۱ لیتر رسید. محلول بافر فسفاتی ۰٫۱ مولار با pH برابر ۷ به‌دست آمد.

تثبیت میکروارگانیزم‌ها

برای تثبیت لجن فعال بر روی حسگر، مقدار ۵۰ میلی‌لیتر از لجن فعال به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. رسوب ایجاد شده با بافر فسفاتی برای دو الی سه مرتبه شستشو داده شده و دوباره به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. مقداری از رسوب به‌دست آمده را بر روی غشای نایلونی (ابعاد ورقه ۲۹×۲۱ cm، اندازه حفره ۰٫۴۵ μm، ساخت گروه بازرگانی و فناوری غشا در ایران) قرار داده و سپس غشاء نایلونی بر روی حسگر قرار داده شد [۱ و ۵].

طراحی حسگر

به‌منظور ساخت حسگر BOD، ابتدا یک الکتروود کلارک طراحی و ساخته شد. در الکتروود مورد نظر از یک سیم نقره‌ای به‌عنوان الکتروود مرجع استفاده شد. برای الکتروود در حال کار از سیم پلاتینی استفاده شد. پلاتین در یک لایه پلاستیکی قرار داده شد و سیم نقره‌ای به دور آن پیچیده شد، به گونه‌ای که هیچ تماس مستقیم بین نقره و پلاتین برقرار نشود. مجموعه دو الکتروود در یک محفظه پلاستیکی که نقش بدنه سلول کلارک را دارد، قرار داده شد. در انتهای محفظه پلاستیکی یک غشاء تقلونی (PTFF) (ابعاد ورقه ۲۹×۲۱ cm، اندازه حفره ۰٫۲۲ μm، ساخت گروه بازرگانی و فناوری غشا در ایران) به کمک یک درپوش تعبیه شده، این غشاء تنها اجازه عبور هوا به داخل سلول را می‌دهد [۶]. برای الکترولیت، پتاسیم کلراید با غلظت ۰٫۱ مولار استفاده شد [۲ و ۸]. با توجه به نشت الکترولیت از غشا در طول زمان، نیاز به تزریق دوباره الکترولیت به داخل سلول بود، که برای این منظور

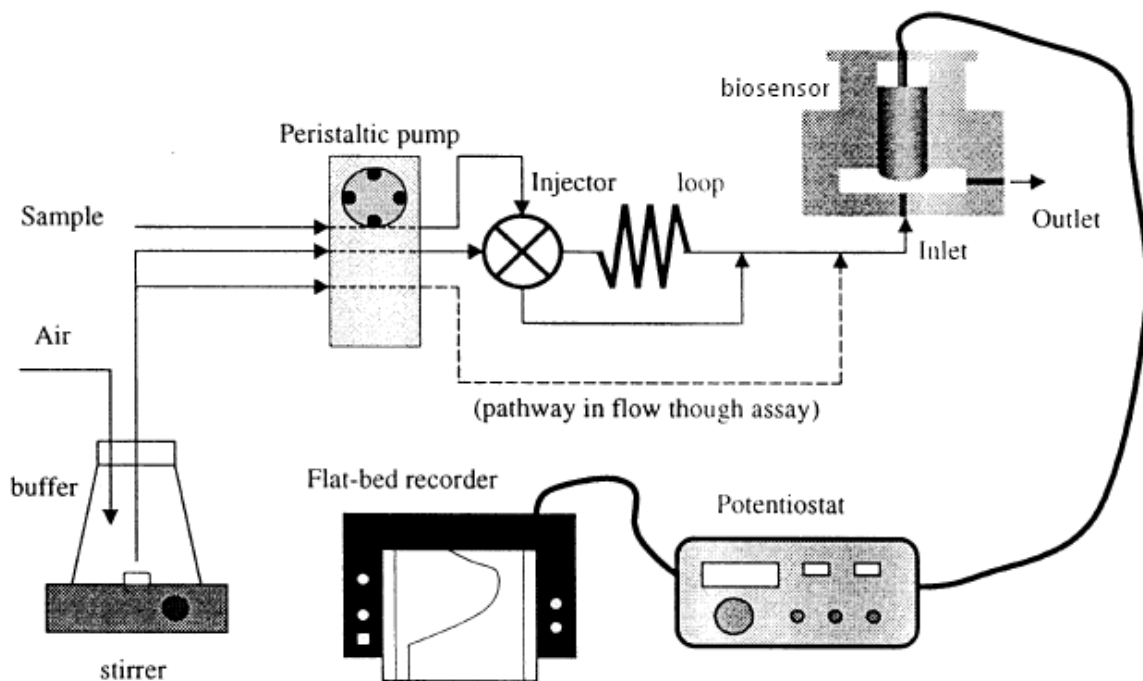
1. Flow injection analysis

افزار و دستگاه پتانسیواستات ثبت می‌شود، یک منحنی جریان الکتریکی - زمان است. برای اینکه جریان الکتریکی خروجی از حسگر به یک مقدار پایا برسد، لازم است مدت زمانی در حدود ۱ الی ۳ ساعت به سامانه فرصت داده شود. پس از اینکه جریان الکتریکی خروجی از حسگر به مدت حداقل ۳۰ دقیقه ثابت ماند، سامانه آماده اندازه‌گیری است.

نتیجه‌ها و بحث

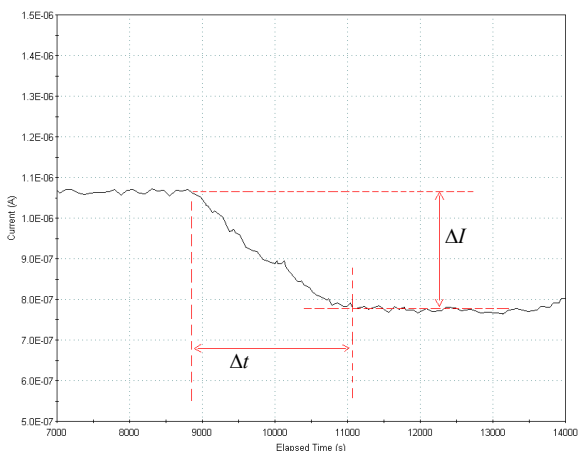
بررسی تأثیر حجم لجن فعال تثبیت شده بر عملکرد حسگر BOD مقدار حجم لجن فعال تثبیت شده بر روی غشاء نایلونی می‌تواند به شدت بر روی پاسخ حسگر تأثیر گذار باشد. برای انتخاب یک حجم مناسب، مقادیر ۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۷۰۰ و ۹۰۰ میکرولیتر از لجن فعال بر روی غشاء نایلونی تثبیت شده و برای هر یک از آن‌ها پاسخ حسگر (تفاوت دو حالت پایا یا ΔI) برای نمونه رقیق شده از محلول استاندارد با BOD_5 برابر با $mg\ O_2/l$

نتیجه‌ها استفاده شد. شمایی از این سامانه در شکل ۲ نشان داده شده است. پس از اتصال اجزای متفاوت سامانه، بافر فسفاتی که در یک منبع توسط پمپ هوادهی، به خوبی هوادهی می‌شود، به کمک پمپ پرستالتیک به سامانه پمپاژ می‌شود. حسگر میکروبی با سیم‌های رابط به پتانسیواستات وصل می‌شود. پتانسیلی برابر با ۶۵۰- میلی‌ولت از طرف پتانسیواستات به حسگر اعمال می‌شود. پس از تثبیت لجن بر روی غشاء نایلونی و نصب بر روی حسگر، و نیز هوادهی بافر فسفاتی با یک شدت هوادهی مناسب، شدت جریان پمپ پرستالتیک بر روی ۰/۹ میلی لیتر بر دقیقه تنظیم شد. پس از برقراری تمام اتصالات بین حسگر، پتانسیواستات و رایانه و روشن کردن آن‌ها، مشخصات روش جریان سنج توسط نرم افزار Electrochemistry Power suite به دستگاه پتانسیواستات وارد شد. مهمترین عامل موجود در این نرم افزار، پتانسیل اعمال شده به حسگر از طرف پتانسیواستات است که مقدار این پتانسیل برابر با ۶۵۰- میلی‌ولت ثابت شد. خروجی حسگر که به کمک نرم

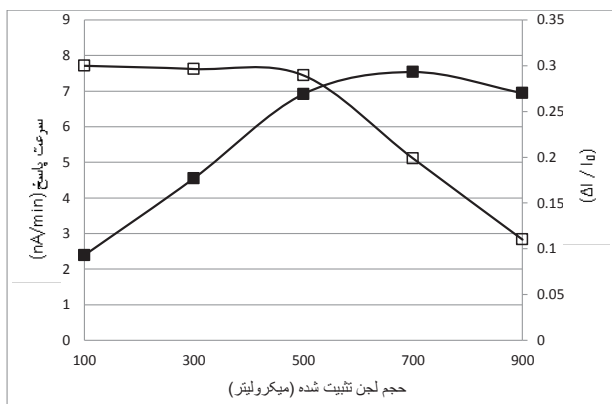


شکل ۲ سامانه تجزیه تزریق جریان به همراه حسگر زیستی [۵]

به دست آمده و با مقایسه آن‌ها مقدار حجم مناسب برای تثبیت لجن فعال بر روی غشای نایلونی انتخاب شد. مقدار سرعت پاسخ حسگر ($\Delta I/\Delta t$) و نسبت تفاوت جریان الکتریکی به جریان اولیه ($\Delta I/I_0$) به ازای هر یک از حجم‌های تثبیت شده در جدول ۱ آمده است. نتیجه‌های به دست آمده به صورت منحنی در شکل‌های ۴ و ۵ نشان داده شده است.



شکل ۳ مقدار پاسخ و زمان پاسخ در منحنی جریان الکتریکی خروجی از حسگر بر حسب زمان به ازای حجم ۵۰۰ میکرولیتر از لجن تثبیت شده



شکل ۴ تغییرات سرعت پاسخ حسگر (مربع توخالی) و تغییرات نسبت تفاوت جریان به جریان اولیه (مربع توپر) به ازای حجم‌های متفاوت از لجن فعال تثبیت شده

۳۰ به دست آمده است. افزون بر این، نسبت تفاوت دو حالت پایا به حالت پایای اولیه ($\Delta I/I_0$) برای هر نمونه اندازه‌گیری شد. برای این کار، برای هر یک از حجم‌های لجن تثبیت شده، مقدار ۴ میلی‌لیتر از محلول استاندارد رقیق شده با BOD_5 برابر با mg/l $O_2/30$ در ورودی پمپ به آرامی تزریق شد. پس از مدت زمانی در حدود ۱۵ دقیقه، نمونه تزریق شده وارد سل حسگر شده و از غشای نایلونی به سمت میکروبوهای تثبیت شده نفوذ کرده، میکروبوها شروع به مصرف و تجزیه سوبسترای موجود کرده و سرعت تنفس آن‌ها افزایش می‌یابد که در نتیجه، مقدار اکسیژن عبوری از غشاء تفلونی به سمت الکترولیت داخل حسگر کاهش یافته و یک افت جریان الکتریکی به صورت یک پیک مشاهده می‌شود. لازم است به سامانه یک فرصت زمانی داده شود تا جریان در حال کاهش به یک مقدار پایا برسد، مقدار پایای حاصل، لازم است حداقل به مدت ۳۰ دقیقه ثابت بماند [۳، ۷، ۸، ۱۳ و ۱۴]. پس از رسیدن به حالت پایای ثانویه، مقدار تفاوت دو حالت پایا و سپس سرعت پاسخ حسگر که در واقع نسبت تفاوت جریان الکتریکی بین دو حالت پایای اولیه و ثانویه به فاصله‌ی زمانی بین دو حالت پایا ($\Delta I/\Delta t$) است، به دست می‌آید. نمونه‌ای از منحنی جریان الکتریکی خروجی از حسگر - زمان در شکل ۳ نشان داده شده است. این فرایند برای تمام حجم‌های تثبیت شده از لجن فعال انجام شده، سپس منحنی‌های ($\Delta I/I_0$) بر حسب حجم لجن تثبیت شده و سرعت پاسخ حسگر بر حسب حجم لجن تثبیت شده

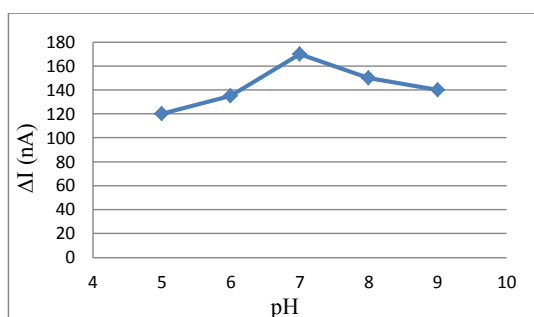
جدول ۱ تأثیر حجم لجن تثبیت شده بر پاسخ حسگر

حجم لجن تثبیت شده (μl)	I_0 (nA)	ΔI (nA)	Δt (min)	$\Delta I/\Delta t$ (nA/min)	$\Delta I/I_0$
۱۰۰	۲۴۱۵	۲۲۵	۲۹٫۲	۷٫۷۱	۰٫۰۹۳
۳۰۰	۱۸۶۰	۳۳۰	۴۲٫۳	۷٫۶۲	۰٫۱۷۷
۵۰۰	۱۰۶۰	۲۸۵	۳۸٫۳	۷٫۴۴	۰٫۲۶۹
۷۰۰	۵۸۰	۱۷۰	۳۳٫۳	۵٫۱۱	۰٫۲۹۳
۹۰۰	۲۹۰	۸۰	۲٫۸	۲٫۸۳	۰٫۲۷

شکل ۵ مشخص است، بیشترین تفاوت جریان در pH برابر با ۷ دیده می‌شود، در pHهای کمتر یا بیشتر از ۷، مقدار پاسخ حسگر کاهش می‌یابد که دلیل آن می‌تواند غیر فعال شدن میکروبی‌های تثبیت شده در شرایط اسیدی و بازی یا فعالیت غیربهبینه آن‌ها باشد. بنابراین، مقدار pH سیال بافر برابر با ۷ انتخاب شد.

جدول ۲ مقادیرهای پاسخ حسگر به ازای مقادیرهای متفاوت pH

pH	۵	۶	۷	۸	۹
ΔI (nA)	۱۲۰	۱۳۵	۱۷۰	۱۵۰	۱۴۰



شکل ۵ تغییرات پاسخ حسگر با pH

بررسی تأثیر شدت جریان سیال حامل بر عملکرد حسگر BOD برای انتخاب شدت جریان مناسب، سرعت پاسخ حسگر برای شدت جریان‌های ۰٫۳، ۰٫۵، ۰٫۷، ۰٫۹، ۱٫۱ و ۱٫۳ میلی‌لیتر بر دقیقه برای نمونه رقیق شده از محلول استاندارد با BOD₅ برابر با ۱۰ mg O₂/l بررسی شد. برای هر شدت جریان، مقدار ۴ میلی‌لیتر از نمونه در ورودی پمپ تزریق شده و پس از رسیدن به حالت پایای ثانویه، سرعت پاسخ حسگر اندازه‌گیری، سپس منحنی سرعت پاسخ حسگر بر حسب شدت جریان سیال حامل ترسیم شد. با بررسی نمودار، شدت جریان مناسب انتخاب شده است. در این مرحله از آزمایش، حجم لجن فعال تثبیت‌شده برابر با ۵۰۰ میکرولیتر و pH سیال حامل برابر با ۷ است. برای این بررسی، مقدار پاسخ، زمان پاسخ و سرعت پاسخ برای هر یک از شدت جریان‌ها در جدول ۳ ذکر شده است. نتیجه‌های به دست آمده در شکل ۶ نشان داده شده است.

همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، با افزایش حجم لجن فعال تثبیت شده بر روی حسگر، سرعت پاسخ حسگر ($\Delta I/\Delta t$) کاهش می‌یابد. دلیل این امر، افزایش ضخامت توده لجن تثبیت شده و در نهایت افزایش مقاومت در برابر نفوذ مواد آلی و اکسیژن است که موجب کاهش سرعت پاسخ حسگر می‌شود. بنابراین براساس این نمودار، مطلوب است تا جایی که ممکن باشد، حجم میکروارگانیزم تثبیت شده کم باشد. ولی از طرف دیگر چنانچه در شکل ۴ دیده می‌شود، با کاهش حجم تثبیت شده، نسبت تفاوت جریان بین دو حالت پایا به جریان اولیه کاهش می‌یابد، دلیل این امر این است که در صورتی که حجم تثبیت شده کافی نباشد، لجن تثبیت شده تنها قادر است نسبت کمی از اکسیژن موردنیاز برای تجزیه مواد آلی را مصرف کند، چرا که مقدار لجن تثبیت شده برای تجزیه تمام مواد آلی در دسترس کم است. با افزایش حجم تثبیت شده تا ۵۰۰ میکرولیتر و بالاتر، لجن تثبیت شده قادر است تمام مواد آلی در دسترس را تجزیه کند. با توجه به دو نمودار فوق، مقدار ۵۰۰ میکرولیتر به‌عنوان حجم بهینه برای تثبیت میکروارگانیزم‌ها انتخاب شد.

بررسی تأثیر pH سیال حامل بر عملکرد حسگر BOD

به منظور انتخاب pH مناسب برای سیال حامل، تأثیر pH بر مقدار پاسخ حسگر (ΔI) بررسی شد. برای این کار به کمک محلول سود سوز آور و کلریدریک اسید، پنج نمونه از بافر فسفات‌ی pHهای ۵، ۶، ۷، ۸ و ۹ تهیه شد. برای یک نمونه رقیق شده از محلول استاندارد با BOD₅ برابر با ۲۰ mg O₂/l به ازای هر یک از بافرهای تهیه شده، اندازه‌گیری انجام شد. برای هر یک از بافرهای تهیه شده، مقدار ۴ میلی‌لیتر از نمونه با BOD₅ برابر با ۲۰ mg O₂/l به سامانه تزریق و پس از رسیدن به حالت پایای ثانویه، مقدار پاسخ حسگر محاسبه شد. مقدار حجم لجن فعال تثبیت شده در این مرحله از آزمایش برابر با ۵۰۰ میکرولیتر انتخاب شد. پمپ پرستالتیک برای شدت جریان برابر با ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه تنظیم شد. نتیجه‌های به دست آمده در جدول ۲ و به صورت منحنی در شکل ۵ نشان داده شده است. همان‌طور که در

همان طور که در شکل ۶ دیده می‌شود، تغییر شدت جریان سیال حامل تأثیر ناچیزی بر سرعت پاسخ حسگر دارد. با افزایش شدت جریان تا ۱٫۱ میلی لیتر بر دقیقه، سرعت پاسخ حسگر افزایش می‌یابد که دلیل آن افزایش سرعت دسترسی میکروبی‌های تثبیت شده به مواد آلی است. با افزایش دبی از ۱٫۱ به ۱٫۳ میلی لیتر بر دقیقه، سرعت پاسخ کاهش یافته که دلیل آن می‌تواند کاهش زمان اقامت مواد آلی در سل حسگر باشد.

با کاهش شدت جریان سیال حامل، زمان پاسخ زیاد می‌شود که به دلیل کاهش سرعت دسترسی حسگر به مواد آلی بوده و افزون بر آن در شدت جریان کم، سرعت شست و شوی حسگر با سیال حامل کم بوده که موجب افزایش زمان احیا می‌شود. به طور قطع مطلوب آن است که زمان پاسخ و احیا کمتر و سرعت پاسخ بیشتر باشد که با توجه به این موارد مقدار شدت جریان مناسب برابر ۰٫۹ میلی لیتر بر دقیقه انتخاب شد.

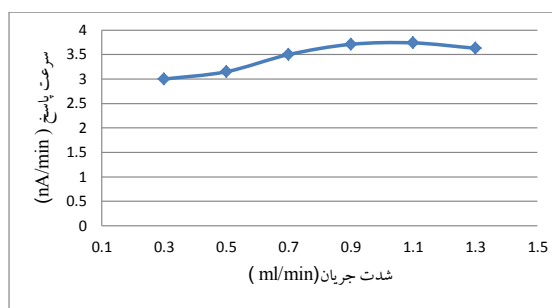
بررسی تأثیر حجم تزریق نمونه بر عملکرد حسگر

به منظور انتخاب حجم مناسب برای تزریق نمونه‌های متفاوت از محلول استاندارد و نمونه‌های پساب، تأثیر حجم تزریق نمونه بر سرعت پاسخ حسگر بررسی شد. مقادیر ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ میلی لیتر از نمونه رقیق شده محلول استاندارد با BOD_5 برابر با $mg\ O_2/l$ ۵ برای تزریق انتخاب شد. پس از هر تزریق، مقدار پاسخ حسگر محاسبه شده و منحنی پاسخ حسگر بر حسب حجم تزریق نمونه به دست آمد. در این مرحله از آزمایش، مقدار حجم لجن تثبیت شده برابر با ۵۰۰ میکرولیتر، pH سیال حامل برابر با ۷ و شدت جریان سیال حامل برابر با ۰٫۹ میلی لیتر بر دقیقه در نظر گرفته شد. مشخصات پاسخ حسگر برای هر یک از حجم‌های تزریق شده در جدول ۴ ذکر شده و تغییرات سرعت پاسخ حسگر با حجم نمونه در شکل ۷ نشان داده شده است.

همان طور که در جدول ۴ دیده می‌شود، با افزایش حجم نمونه تزریق شده، مقدار پاسخ حسگر افزایش یافته که دلیل آن دسترسی بیشتر میکروبی‌های تثبیت شده به مواد آلی است. از طرف دیگر چنانچه در شکل ۷ مشخص است، با افزایش حجم تزریق نمونه تا مقدار ۳ میلی لیتر، سرعت پاسخ افزایش و بعد از آن کاهش یافته

جدول ۳ مشخصات پاسخ حسگر به شدت‌های جریان متفاوت از سیال حامل

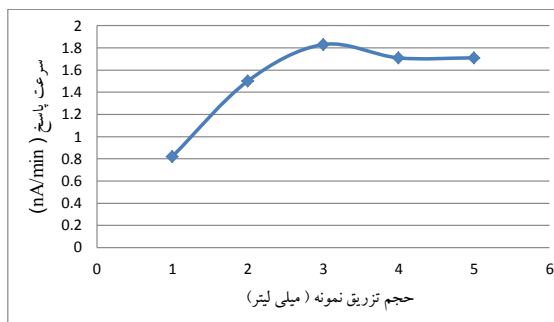
شدت جریان (ml/min)	I_0 (nA)	ΔI (nA)	Δt (min)	$\Delta I/\Delta t$ (nA/min)
۰٫۳	۹۵۰	۱۰۵	۳۵٫۰	۳
۰٫۵	۹۸۵	۱۰۵	۳۳٫۳	۳٫۱۵
۰٫۷	۱۰۱۵	۱۰۵	۳۰٫۰	۳٫۵
۰٫۹	۱۰۵۰	۱۰۵	۲۸٫۳	۳٫۷۱
۱٫۱	۱۰۷۰	۱۰۰	۲۶٫۷	۳٫۷۴
۱٫۳	۱۰۸۰	۱۰۰	۲۷٫۵	۳٫۶۳



شکل ۶ تغییرات سرعت پاسخ حسگر با شدت جریان سیال بافر

جدول ۴ مشخصات پاسخ حسگر به حجم‌های متفاوت از نمونه تزریق شده

حجم نمونه (ml)	ΔI (nA)	Δt (min)	$\Delta I/\Delta t$ (nA/min)
۱	۱۵	۱۸٫۳	۰٫۸۲
۲	۴۰	۲۶٫۷	۱٫۵۰
۳	۵۵	۳۰٫۰	۱٫۸۳
۴	۶۰	۳۵٫۰	۱٫۷۱
۵	۶۰	۳۵٫۰	۱٫۷۱



شکل ۷ تغییرات سرعت پاسخ حسگر با حجم نمونه تزریق شده

دارای خطای 10.6% و 18.3% است. در جدول ۵ مقایسه بین نتایج‌های حسگر مورد بررسی با کارهای مشابه انجام شده است. کاهش در مقدار گزارش شده با توجه به کاهش قابل توجه در زمان تماس میکربی با ترکیبات آلی موجود در نمونه قابل انتظار است. در روش استاندارد اندازه‌گیری BOD_5 فرایندهای شامل تطبیق و سازگاری با سوبسترا از طریق تولید آنزیم‌های مناسب برای تجزیه سوبسترا، آبکافت پروتئین‌ها، لیپیدها و ماکرومولکول‌ها توسط آنزیم‌ها، و تغییر در ترکیب لجن فعال با کاهش یا افزایش در جمعیت برخی از گونه‌های میکروبی اتفاق می‌افتد. از طرفی نتیجه‌های نشان می‌دهد که نوع پساب و تنوع ترکیبات موجود در آن تأثیر قابل توجهی بر نتیجه‌های حسگر زیستی دارد. این امر با توجه به سازگاری مخلوط میکربی مورد استفاده در حسگر زیستی قابل توجیه است. لذا آماده سازی حسگر زیستی و اجزاء آن همچنین میزان رقیق‌سازی پساب مورد استفاده در تجزیه نمونه صنعتی باید در نظر گرفته شود.

نتیجه گیری

در انتخاب مقدار مناسب برای هر یک از عامل‌های مؤثر بر عملکرد حسگر BOD باید به این نکته توجه کرد که تغییر مقدار

که دلیل این کاهش افزایش زمان پاسخ است که مطلوب نیست. از مجموع نتیجه‌های به دست آمده، مقدار ۳ میلی‌لیتر، به دلیل بالاترین سرعت پاسخ و مقدار پاسخ و زمان پاسخ مناسب، به‌عنوان مقدار مناسب حجم تزریق نمونه انتخاب شد.

اندازه‌گیری مقدار BOD نمونه پساب صنعتی

بمنظور اندازه‌گیری BOD ، عامل‌های عملیاتی حسگر زیستی در مقادیر بهینه شده فوق تنظیم شدند. مقدار حجم لجن تثبیت شده بر روی غشاء برابر با ۵۰۰ میکرولیتر، شدت جریان سیال حامل برابر با ۰.۹ میلی‌لیتر بر دقیقه و pH سیال حامل برابر با ۷ انتخاب شد. روش اندازه‌گیری بدین صورت بود که پس از برقراری حالت پایای اولیه، مقدار ۳ میلی‌لیتر از نمونه پساب صنعتی در ورودی پمپ تزریق شده و پس از برقراری حالت پایای ثانویه، مقدار پاسخ حسگر اندازه‌گیری شد. با استفاده از روش استاندارد، مقدار BOD_5 پساب یک واحد لبنی و نیز پساب کارخانه نشاسته به ترتیب برابر 310 و $191 \text{ mg O}_2/\text{l}$ گزارش شد. با استفاده از حسگر زیستی بهینه شده، مقادیر BOD این نمونه‌ها به ترتیب برابر ۲۷۷ و $156 \text{ mg O}_2/\text{l}$ به دست آمد. مقادیر گزارش شده از حسگر زیستی

جدول ۵ مقایسه نتیجه‌های تجزیه BOD حاصل از حسگرهای متفاوت [۸] با حسگر مورد مطالعه در این مقاله

نوع پساب	میکروب تثبیت شده	BOD_5 (mg/l)	BOD حسگر (mg/l)
شهری	<i>Trichosporon cutaneum</i>	۸۳۲	۹۷۳
شهری	<i>Arxula adenivorans LS3</i>	۱۳۱	۹۸
شهری	Activate sludge	۶۸	۱۹۱
شهری	Activate sludge	۵۷	۱۷۰
صنایع غذایی	<i>Pseudomonas putida</i>	۱۹۵۴	۱۷۴۰
صنایع غذایی	<i>Bacillus subtilis</i>	۳۴۸	۳۱۹
صنایع تخمیر	<i>Bacillus subtilis</i>	۲۷۰۰	۲۲۴۵
صنایع شیمیایی	<i>Trichosporon cutaneum</i>	۷۲۶	۸۵۳
صنایع لبنی*	Adapted Activate sludge	۳۱۰	۲۷۷
صنایع نشاسته*	Adapted Activate sludge	۱۹۱	۱۵۶

* نتایج حسگر مورد بررسی در این مقاله

از لجن فعال بر روی حسگر تثبیت شود، سرعت پاسخ حسگر به شدت کاهش یافته که منجر به بازدهی پایین حسگر می‌شود. نتیجه‌های مربوط به pH بافر فسفاتی نشان داد که حسگر BOD مناسب‌ترین عملکرد را در محیط خنثی داشته و استفاده از حسگر در محیطها با شرایط سخت اسیدی و بازی، به شدت عملکرد حسگر را تضعیف می‌کند.

سیاسگزاری

از صندوق حمایت از پژوهشگران ریاست جمهوری به دلیل تامین مالی پروژه تشکر و قدردانی می‌شود. از آزمایشگاه محیط زیست دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان نیز به دلیل اندازه‌گیری استاندارد BOD₅ تشکر و قدردانی می‌شود.

یک عامل می‌تواند تأثیرات متفاوت بر مشخصات پاسخ حسگر داشته باشد. برای مثال افزایش حجم تزریق نمونه، مقدار پاسخ حسگر را افزایش داده که تأثیری مطلوب بر عملکرد حسگر تلقی می‌شود ولی از طرف دیگر زمان پاسخ حسگر افزایش می‌یابد که بازدهی حسگر را کاهش می‌دهد. در میان عامل‌های بررسی شده، شدت جریان سیال حامل تنها عاملی بود که تغییر محسوسی در مقدار پاسخ حسگر نداشت. انتخاب شدت جریان سیال حامل عمدتاً به حجم سل حسگر و یا به عبارتی به زمان اقامت نمونه‌ها در سل حسگر بستگی دارد. افزون بر این، صرفه جویی در مصرف بافر فسفاتی نیز می‌تواند در انتخاب مقدار شدت جریان مؤثر باشد. در میان عامل‌های مؤثر بر عملکرد حسگر، حجم لجن تثبیت شده تأثیر زیادی بر سرعت حسگر نشان داد. در صورتی که حجم زیادی

مراجع

- [1] Rastogi, S.; Rathee, P.; Saxena, T.K.; Mehra, N.K.; Kumar, R.; Biosens. Bioelectron. 18, 23-29, 2003.
- [2] Jia, J.; Tang, M.; Chen, X.; Qi, L.; Dong, S.; Biosens. Bioelectron. 18, 1023-1029, 2003.
- [3] Chang, I.S.; Jang, G.K.; Gil, G.C.; Biosens. Bioelectron. 19, 607-613, 2004.
- [4] Oota, S.; Hatae, Y.; Amada, K.; Koya, H.; Kawakami, M.; Biosens. Bioelectron. 26, 262-266, 2010.
- [5] Liu, J.; Bjornndon, L.; Mattiasson, B.; Biosens. Bioelectron. 14, 883-893, 2000.
- [6] Liu, J.; Olsson, G.; Mattiasson, B.; Biosens. Bioelectron. 20, pp 562-570, 2004.
- [7] Rastogi, S.; Rathee, P.; Saxena, T.K.; Mehra, N.K.; Kumar, R.; Curr. Appl. Phys. 3, 191-194, 2003.
- [8] Liu, J.; Mattiasson, B.; Water Res. 36, 3786-3802, 2002.
- [9] Tan, T.C.; Lim, E.W.C.; Sens. Act. 107, 546-551, 2005.
- [10] Nakamura, H.; Suzuki, K.; Ishikuro, H.; Kinoshita, S.; Talanta, 72, 210-216, 2007.
- [11] Bilitewski, U.; Turner, A.P.F.; Biosensors for environmental monitoring, Harwood Academic Publishers, The Netherlands, 2000.
- [12] Dhall, P.; Kumar, A.; Joshi, A.; Saxena, T.K.; Sens. Act. B. Chem. 133, 478-483, 2008.
- [13] Lei, Y.; Chenb, W.; Mulchandani, A.; Anal. Chim. Acta. 568, 200-210, 2006.
- [14] Kumlanghan, A.; Kumlanghan, P.; Asawatratanakul, P.; Enzyme Microb. Technol. 42, 483-491, 2008.

Investigation of operational parameters on performance of cell-based BOD biosensor

B. Mahdavi¹ and H. Zilouei^{2,*}, N. Mir-Ghafari³

1. M.Sc. in Chemical Engineering, Department of Chemical Engineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
2. Assistant Prof. of Environmental Biotechnology, Department of Chemical Engineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
3. Associate Prof. of Environmental, Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

Received: March 2012, Revised: June 2012, Accepted: July 2012

Abstract: A microbial-based biosensor for BOD determination of industrial and municipal wastewaters was designed and optimized. Operating conditions during measurement of BOD samples have a great impact on the sensor. So, selection of the most suitable values for operating conditions and parameters affecting the BOD biosensor performance for accessing a highly accurate measurement is necessary. A Clark cell was used as the transducer and activated sludge collected from water and wastewater treatment plant of Shahinshahr, Iran, pretreated and used as the biological receptor. The effects of the volume of sludge immobilized on the sensor, pH of carrier fluid, flow rate of carrier fluid and volume of sample injection on the biosensor performance were studied. The optimum values for volume of sludge immobilized on the sensor, pH and flow rate of carrier fluid, and volume of sample injection were obtained equal to 500 μ l, 7, 0.9 ml/min and 3 ml, respectively.

Keywords: Biosensor, BOD, Activated sludge, Response optimization