



Available online: <http://ijhe.tums.ac.ir>

مقاله پژوهشی

استفاده از ریزجلبک کلرلا ولگاریس در تصفیه زیستی پساب صنایع لبنی

مهتاب خلجی^{۱*}، سید عباس حسینی^۱، رسول قربانی^۱، ناصر اقی^۲، حسن رضایی^۳

- ۱- گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- ۲- پژوهشکده آرتیمیا و آبزی پروری ارومیه، گروه بیولوژی و تکثیر و پرورش، دانشکده شیلات، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
- ۳- گروه محیط زیست، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله:

زمینه و هدف: وجود مواد مغذی در پساب (عمدتاً نیتروژن و فسفر) سبب غنی شدن محیط و بلوم‌های جلبکی و در نتیجه ایجاد مشکلات متعددی در محیط‌های آبی می‌گردد. از میان روش‌های مختلفی که برای جداسازی مواد مغذی پساب‌ها به کار گرفته شده‌اند، ریزجلبک‌ها دارای کارایی مناسبی هستند. ریزجلبک کلرلا ولگاریس دارای ویژگی‌هایی از جمله، رشد بالا، مقاوم نسبت به دست‌کاری در سیستم‌های پرورشی، فناوری ساده و ارزان تولید و همچنین سرعت بالای جذب مواد مغذی از جمله فسفات و نترات است.

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۱/۲۴
تاریخ ویرایش: ۹۸/۰۴/۱۰
تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۴/۱۵
تاریخ انتشار: ۹۸/۰۶/۱۳

روش بررسی: در تحقیق حاضر دو غلظت از ریزجلبک کلرلا ولگاریس (۱۳ million cell/mL و ۲۶ million cell/mL) را در پساب صنایع لبنی با درصد رقیق سازی (۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد) تزریق و میزان حذف مواد مغذی و رشد ریزجلبک در طی دوره رشد بررسی گردید.

واژگان کلیدی: ریزجلبک کلرلا ولگاریس،

پساب، صنایع لبنی، مواد مغذی، تصفیه زیستی

یافته‌ها: نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف جلبک و درصدهای مختلف رقیق سازی (۲۵، ۵۰، ۷۵ درصد) در حذف مواد مغذی و رشد ریزجلبک اثر بسزایی دارند. جذب مواد مغذی (نترات، فسفات و آمونیاک) در تیمارهای گروه اول به ترتیب ۵۷/۰۱، ۵۱/۸۴ و ۴۳/۱۵ درصد در مقایسه با تیمارهای گروه دوم با قابلیت جذب ۲۹/۱۵، ۵۱/۸۴ و ۴۳/۱۵ بیشتر است. در هر دو غلظت جلبک بیشترین درصد جذب فسفات و آمونیاک در رقت ۲۵ درصد پساب و بیشترین درصد جذب نترات در گروه اول مربوط به رقت ۵۰ درصد و در گروه دوم مربوط به رقت ۷۵ درصد است.

پست الکترونیکی نویسنده مسئول:

mahtabkhalaji24@gmail.com

نتیجه‌گیری: زمانی که غلظت ریزجلبک کلرلا ولگاریس گروه اول ۱۳ million cell/mL است درصد بیشتری مواد مغذی (نترات، فسفات، آمونیاک) نسبت به گروه دوم با غلظت ۲۶ million cell/mL حذف شد. با افزایش غلظت ریزجلبک جذب مواد مغذی کاهش می‌یابد. در مورد درصد جذب نترات هر چقدر غلظت جلبک افزایش یابد در رقیق سازی بیشتر جذب صورت می‌گیرد.

مقدمه

مواد دفعی موجود در آب منعکس کننده مدل زندگی و جوامع آبی است (۱). $\frac{3}{4}$ کربن آلی در فاضلابها به صورت کربوهیدرات، چربی، پروتئین، اسید آمینه و اسیدهای فرار هستند. ترکیبات معدنی فاضلابها شامل غلظت‌های بالای سدیم، کلسیم، پتاسیم، کربن، سولفور، فسفات، بی کربنات، نمک آمونیوم و فلزات سنگین است (۲، ۳). دیگر منابع آلوده کننده آبها شامل تخلیه مواد خام یا خطرناک فاضلاب از شهرها و روستاها، تخلیه از کارخانجات یا صنایع، زهکشی شدن از زمین‌های کشاورزی و شستشوی خاکها است (۳). پساب نتیجه فعالیت‌های انسان در عرصه‌های مختلف شهری، کشاورزی و یا صنعتی است (۴). امروزه تاکید زیادی بر جمع آوری و رفع آلودگی از انواع پسابها می‌گردد. به این علت که پسابها توانایی بالقوه‌ای در آلوده‌سازی منابع غذایی و آبها دارند و به عنوان محیط بسیار مساعدی برای رشد انواع مختلف میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا (Pathogenic microorganisms) به شمار می‌روند (۵). سیستم‌ها و روش‌های مختلفی جهت تصفیه پسابها طراحی شده‌اند که هر یک مزایا و معایب خاص خود را دارند. برای فائق آمدن بر بخشی از مشکلات ذکر شده، یکی از راه‌ها استفاده از فرایند بیولوژیکی در تصفیه کارآمد آب محیط‌های پذیرنده است (۶). مطالعات مختلفی بر روی استفاده از ریزجلبکها در تصفیه فاضلاب‌های مختلف صورت گرفته است. اخیراً *Zhu* و همکاران راندمان حذف TN و TP به ترتیب ۶۸-۸۱ و ۹۰-۱۰۰ درصد به کمک جلبک *Chlorella zofingiensis* در فاضلاب گزارش کردند. همچنین مطالعات نشان داده است حذف مواد مغذی دارای اهمیت است (۷). ریزجلبکها به دلیل ساختار اولیه و فعالیت‌های متابولیکی مختلف نسبت به گیاهان اهمیت بیشتری دارند. آنها به دلیل توانایی جذب مواد آلی و معدنی از محیط آب و تولید زیست توده انبوه مورد توجه هستند (۸). سیستم‌های کشت ریزجلبکها می‌توانند نقش ارزنده‌ای را در تصفیه پسابها ایفا نمایند (۷). زیرا ریزجلبکها قادرند برداشت و حذف مواد مغذی به‌خصوص نیتروژن، فسفر، فلزات سنگین، مواد آلی و پاتوژن را از پساب افزایش دهند.

نکته قابل توجه در تصفیه پسابها با استفاده از ریزجلبکها، همزیستی و همکاری آنها با باکتری‌ها در فرایند تصفیه است. در این ارتباط، ریزجلبکها گاز دی اکسید کربن حاصل از فعالیت‌های متابولیسمی باکتری‌ها را جذب کرده و در فرایند فتوسنتز مورد استفاده قرار می‌دهند و از طرف دیگر اکسیژن تولید شده توسط ریزجلبکها در فرایندهای مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد.

اصطلاح فیکورمدیشن (Phycoremediation) یا تصفیه زیستی آلاینده‌ها با استفاده از جلبکها، به استفاده از جلبکها برای تیمار و تصفیه مواد آلاینده از پساب‌هایی با منشأ مختلف و یا تبدیل آلودگی‌هایی مثل زئوبیوتیکها (Xenobiotic) از پسابها اشاره دارد که در مقیاس وسیعی در سیستم‌های تصفیه فاضلاب مورد استفاده قرار گرفته است (۸-۱۰). نسبت بین C:N:P در پساب‌های مختلف متفاوت است. که مقدار نیتروژن و فسفر فاضلاب خانگی نسبت به کربن آن کمتر است و این می‌تواند در محدود کردن رشد ریزجلبک موثر باشد (۱۱). ریزجلبک برای ایجاد و تشکیل ۴۵ تا ۶۰ درصد از وزن خشک خود به مقادیر بالای نیتروژن و فسفر در ساخت اسیدهای نوکلئیک، فسفولیپید و پروتئینها نیاز دارند؛ بنابراین می‌توانند برداشت مواد اولیه مغذی از پسابها را تسریع نمایند. نکته دیگر اینکه کارایی جلبکها در تصفیه پسابها تابع نوع گونه، حجم توده جلبکی، pH، هوادهی و زمان مناسب برای حداکثر فعالیت جلبک بر روی پساب، کیفیت و کمیت پساب از جمله غلظت مواد مغذی است (۱۲-۱۴). دو گونه از ریزجلبک‌های *Chlorella vulgaris* و *Scenedesmus acuminatus* به دلیل نرخ رشد بالا برای تصفیه فاضلاب پیشنهاد شدند (۱۵-۱۸) صنایع لبنی یکی از منابع مهم و عمده فاضلاب است. صنایع شیر به‌طور متوسط بین million $3/739$ تا $11/217$ فاضلاب در سال تولید می‌کند (۱۶). در اکثر واحدهای صنایع شیر، پمپ‌های تمیزکننده تجهیزات به منظور شستشو وجود دارد و هیدروکسید سدیم، اسیدفسفریک یا نیتریک به‌عنوان مواد ضدعفونی کننده محسوب می‌شوند (۱۷). بنابراین حجم و قدرت جریان فاضلاب روز به روز به‌علت

نهایت مقدار مواد مغذی نیترات و فسفات و آمونیاک در آن اندازه گیری شد.

مقادیر اولیه برخی پارامترهای پساب صنایع لبنی پس از تهیه غلظت‌های مورد استفاده (۲۵، ۵۰، ۷۵ درصد) عبارتند از: نیترات (۵۴/۲۲، ۴۵/۷۱، ۴۱/۲)، فسفات (۷۶۱، ۷۰۵، ۵۸۲) و آمونیاک (۳۶/۷۲، ۳۲/۵۱، ۲۸/۴۳) تیمارهای آزمایشی به صورت زیر است:

P1 ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد، پساب رقیق شده به ترتیب با ۵۰، ۲۵ و ۷۵ درصد آب و غلظت اولیه جلبک (۱۳ million cell/mL)
 P2 ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد، پساب رقیق شده به ترتیب با ۵۰، ۲۵ و ۷۵ درصد آب و غلظت اولیه جلبک (۲۶ million cell/mL)
اندازه گیری مواد مغذی:

برای اندازه‌گیری مواد مغذی، نیترات و فسفات از کیت‌های شرکت وگتک و دستگاه فتومتر استفاده شد که این اندازه‌گیری یک روز در میان انجام گرفت.

برای آنالیز حذف مواد مغذی از معادله ۱ استفاده شد (۱).

$$W\% = (C_0 - C_i) / C_0 \times 100 \quad (1)$$

که در این معادله: $W\%$: درصد جذب، C_0 : غلظت در زمان آغازین t_0 ، C_i : غلظت در زمان t_i .

شمارش سلول‌های جلبکی:

شمارش جلبک‌ها با استفاده از لام هموسیتومتری و با روش پیشنهاد شده توسط Martinez و همکاران (۲۰۰۰) به صورت روزانه انجام شد. در این روش مقدار 0.1 mL از محیط کشت همگن شده برداشته شد و بر روی لام هموسیتومتری قرار داده شد و عمل شمارش زیر میکروسکوپ اینورت انجام گرفت (۲۱).

آنالیز آماری:

این آزمایش با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل با استفاده از ۲ فاکتور شامل فاکتور اول غلظت پساب در ۳ سطح (۲۵، ۵۰، ۷۵ درصد)، فاکتور دوم غلظت جلبک *C. vulgaris* در دو سطح (۱۳ و ۲۶ million cell/mL) و ۳ تکرار انجام گرفت. ابتدا نرمال بودن داده‌های خام با آزمون

تفاوت در تولید، تغییر می‌کند و همچنین میزان و غلظت فاضلاب در واحد تولیدی تغییر می‌کند (۱۸). ریزجلبک کلرلا به‌علت رشد بالا و مقاومتش به دست‌کاری در سیستم‌های پرورشی و همچنین فناوری ساده و ارزان تولید، می‌تواند در تصفیه پساب مفید باشد (۱۹). از این رو جلبک کلرلا در بسیاری از مطالعات به منظور جداسازی نیتروژن و فسفر به‌کار گرفته شده و نتایج مثبتی نیز از به‌کارگیری آن به‌دست آمده است. هدف از این مطالعه بررسی توانایی ریزجلبک کلرلا و لگاریس با دو غلظت متفاوت (۱۳ و ۲۶ million cell/mL) در تصفیه زیستی پساب صنایع لبنی و میزان حذف مواد مغذی از محیط پساب است. لزوم انجام تحقیق حاضر تصفیه زیستی پساب با هزینه کمتر و به‌صورت اقتصادی و تولید انبوه ریزجلبک کلرلا و لگاریس بدون نیاز به آب و زمین فراوان است.

مواد و روش‌ها

کشت ریزجلبک:

استوک ریزجلبک کلرلا و لگاریس از پژوهشکده دریای خزر تهیه و به آزمایشگاه فایکولب دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شد. قبل از شروع کشت، اتاق کشت به‌وسیله لامپ UV به مدت نیم ساعت استریل گردید. تمامی وسایل در آن 180°C به مدت ۱ h خشک و ارلن مایرهای حاوی محیط کشت در دستگاه اتوکلاو به‌طور کامل استریل شدند. از محیط کشت BG₁₁ برای کشت اولیه جلبک استفاده شد. کشت جلبک در دمای ۲۲ تا 25°C و شدت نور Lux 3500 ± 3500 نوری و دوره نوری (تاریکی:روشنایی) (۱۲:۱۲) طی ۱۴ روز کشت داده شد (۲۰). پس از رشد، جلبک‌ها با آب مقطر دیونیزه شستشو داده شد تا واسطه‌هایی که باعث رشد شدند از جلبک خارج شوند.

تهیه نمونه پساب:

نمونه پساب از کارخانه شیر تهیه و به آزمایشگاه فایکولب انتقال داده شد (نمودار ۳) و برای حذف ذرات بزرگ فیلتر کرده و اتوکلاو شد سپس به کمک آب مقطر به صورت ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد رقیق کرده سپس ریزجلبک را در آنها کشت داده در

کولموگوروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) بررسی شد، داده‌های نرمال با تجزیه واریانس دو طرفه (Two-way Anova) بررسی شد و برای مقایسه میانگین تیمارهای مختلف از آزمون LSD در سطح اطمینان $p=0/05$ استفاده شد. بررسی روند حذف مواد آلی در زمان از آزمون رگرسیون و جهت بررسی ارتباط بین پارامترهای مورد اندازه‌گیری از آزمون همبستگی توسط نرم افزار SPSS, 17 و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

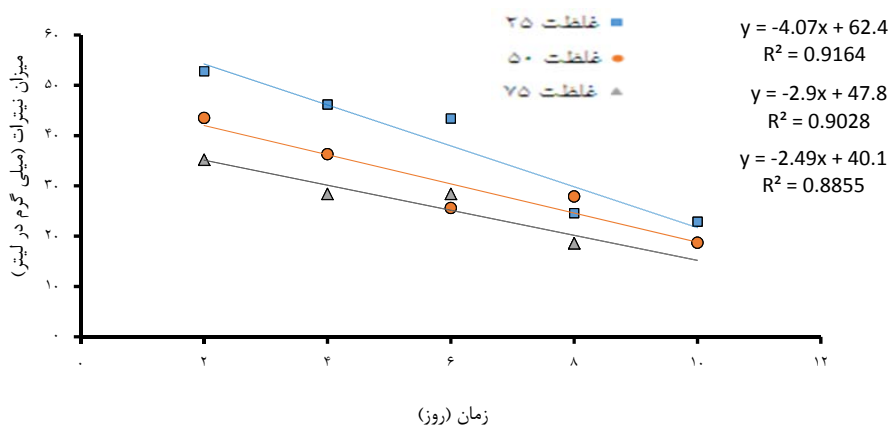
یافته‌ها

نیترات و فسفات:

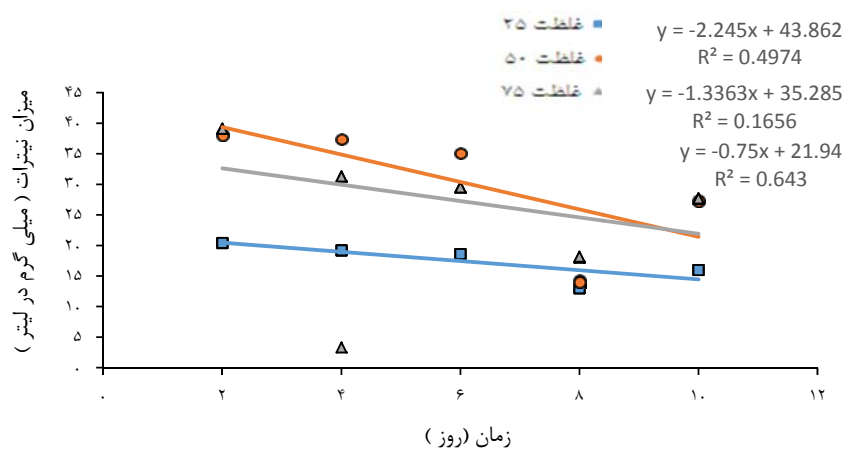
مقادیر فسفات و نیترات در پساب‌ها به‌عنوان مواد مغذی اصلی فراوان است. کارایی جذب و مقدار حذف شده فسفات و نیترات

در طول دوره آزمایش مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نمودار ۱ میزان نیترات در طول آزمایش در غلظت‌های مختلف پساب و غلظت اولیه جلبک (۱۳ million cell/mL) روند کاهشی داشته است و این کاهش معنی‌دار ($p<0/05$) است. بیشترین شیب کاهش به ترتیب مربوط به غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد است.

با توجه به نمودار ۲ میزان نیترات در طول آزمایش در غلظت‌های مختلف پساب و غلظت ثانویه جلبک (۲۶ million cell/mL) روند کاهشی داشته است و این کاهش معنی‌دار ($p<0/05$) است. بیشترین شیب کاهش به ترتیب مربوط به غلظت‌های ۵۰، ۷۵ و ۲۵ درصد است.



نمودار ۱- میزان نیترات اندازه‌گیری شده در طول آزمایش در غلظت‌های مختلف P1



نمودار ۲- میزان نیترات اندازه‌گیری شده در طول آزمایش در غلظت‌های مختلف P2

جدول ۱- درصد حذف نیترا و فسفات و آمونیاک در تیمارهای آزمایشی در غلظت اولیه جلبک (۱۳ million cell/mL)

فاکتور	تیمار	P1 %۲۵	P1 %۵۰	P1 %۷۵
نیترا		۵۶/۶۲ ^b	۵۷/۰۱ ^a	۴۹/۱۴ ^c
فسفات		۵۱/۸۴ ^b	۵۰/۴۳ ^a	۴۵/۴۲ ^c
آمونیاک		۴۳/۱۵ ^b	۳۴/۰۶ ^a	۳۰/۳۳ ^d

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در طول دوره آزمایشی در سطح $p=0/05$ است.

معنی‌داری ($p<0/05$) وجود دارد و کمترین درصد جذب نیترا مربوط به تیمار ۲۵ درصد P۲ (۲۱/۵۶ درصد) هست. در مورد فسفات و آمونیاک بیشترین درصد جذب آنها به ترتیب ۵۱/۸۴ و ۴۳/۱۵ درصد مربوط به تیمارهای ۲۵ درصد P۲ است. کمترین آنها به ترتیب ۴۵/۴۲ و ۳۰/۳۳ درصد مربوط به تیمار ۷۵ درصد P۲ است. با توجه به نمودار ۳ میزان فسفات در طول آزمایش در غلظت‌های مختلف پساب و غلظت اولیه جلبک (۱۳ million cell/mL) روند کاهشی داشته است و دارای اختلاف معنی‌دار ($p<0/05$) است. بیشترین میزان آن به ترتیب مربوط به غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد است.

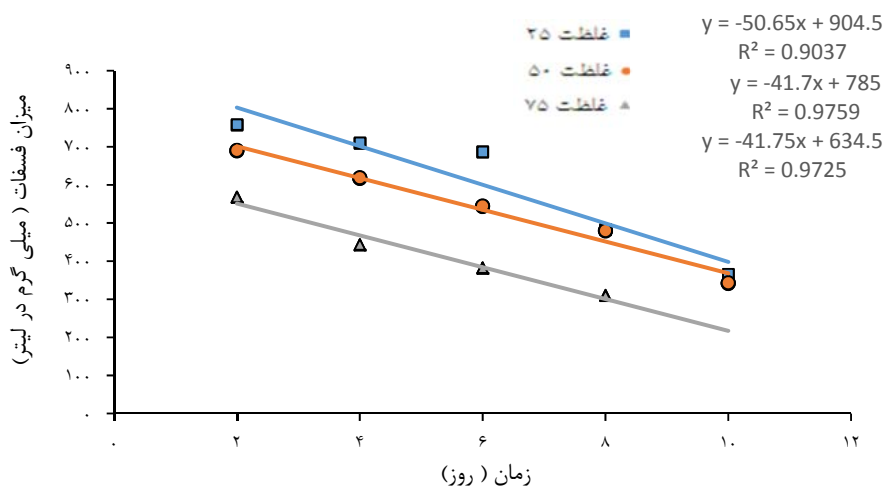
جدول ۱ نشان می‌دهد بیشترین درصد جذب نیترا (۵۷/۰۱ درصد) مربوط به تیمار ۵۰ درصد P۱ هست. بین درصد جذب نیترا و فسفات و آمونیاک در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری ($p<0/05$) وجود دارد و کمترین درصد جذب مربوط به تیمار ۷۵ درصد P۱ (۴۹/۱۴ درصد) است. در مورد فسفات و آمونیاک بیشترین درصد جذب آنها به ترتیب ۵۱/۸۴ و ۴۳/۱۵ درصد مربوط به تیمار ۲۵ درصد P۱ است. کمترین آنها به ترتیب ۴۵/۴۲ و ۳۰/۳۳ درصد مربوط به تیمار ۷۵ درصد P۱ است.

جدول ۲ نشان می‌دهد بیشترین درصد جذب نیترا (۲۹/۱۵ درصد) مربوط به تیمار ۷۵ درصد P۲ است. بین درصد جذب نیترا و فسفات و آمونیاک در تیمارهای مختلف اختلاف

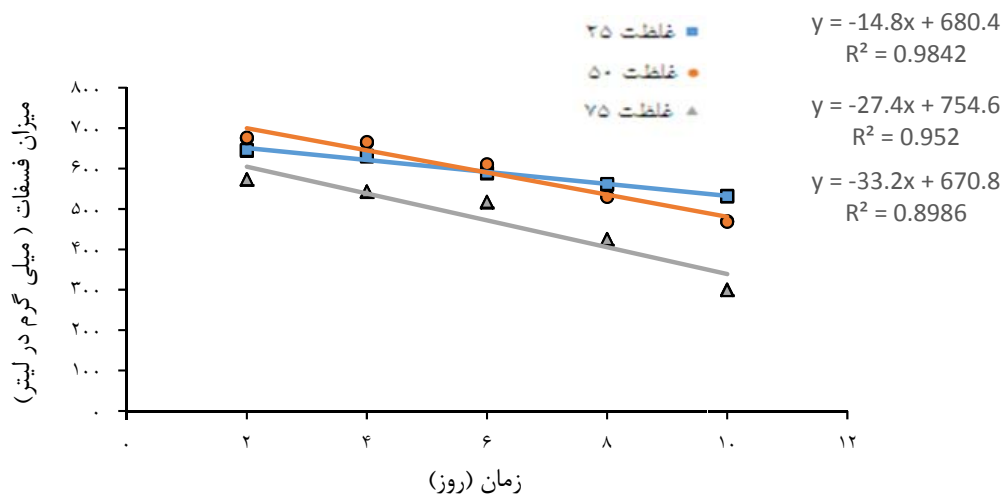
جدول ۲- درصد حذف نیترا و فسفات و آمونیاک در تیمارهای آزمایشی در غلظت ثانویه جلبک (۲۶ million cell/mL)

فاکتور/ تیمار	P۲ %۲۵	P۲ %۵۰	P۲ %۷۵
نیترا	۲۱/۵۶ ^l	۲۸/۳۴ ⁱ	۲۹/۱۵ ^g
فسفات	۵۱/۸۴ ^l	۵۰/۴۳ ⁱ	۴۵/۴۲ ^g
آمونیاک	۴۳/۱۵ ^l	۳۴/۰۶ ^f	۳۰/۳۳ ^c

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در طول دوره آزمایشی در سطح $p=0/05$ است.



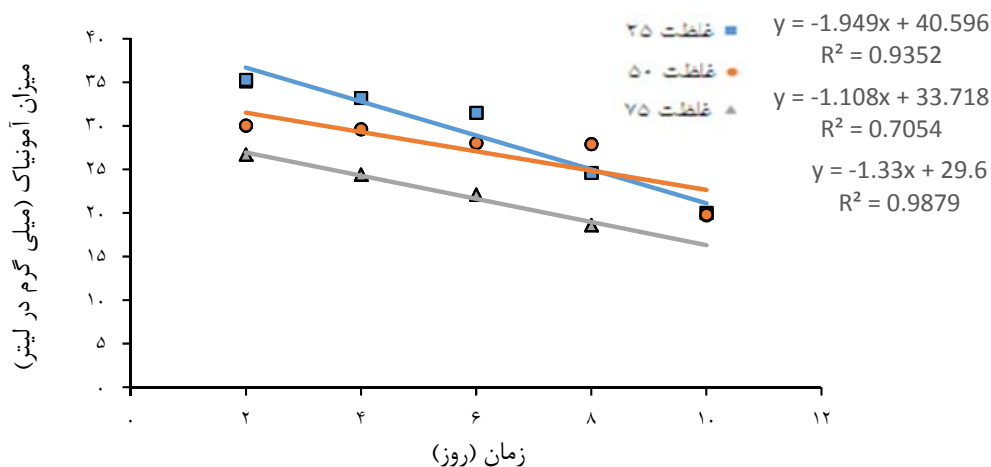
نمودار ۳- میزان فسفات در طول آزمایش در P1



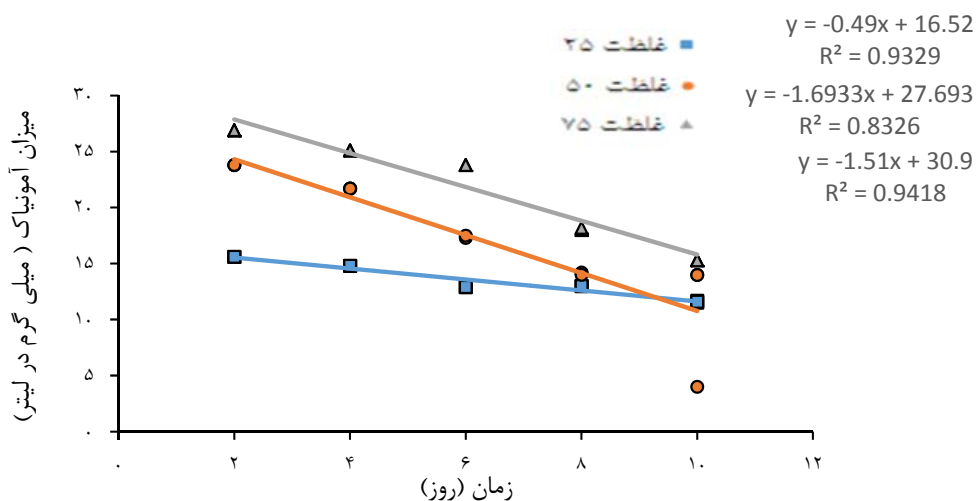
نمودار ۴- میزان فسفات در طول آزمایش در P2

با توجه به نمودار ۵ میزان آمونیاک در طول آزمایش در غلظت‌های مختلف پساب و غلظت اولیه جلبک (۱۳ million cell/mL) روند کاهشی داشته است و دارای اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) است. بیشترین میزان آن به ترتیب مربوط به غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد است.

با توجه به نمودار ۴ میزان فسفات در طول آزمایش در غلظت‌های مختلف پساب و غلظت ثانویه جلبک (۲۶ million cell/mL) روند کاهشی داشته است و دارای اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) است. بیشترین میزان آن به ترتیب مربوط به غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد است.



نمودار ۵- میزان آمونیاک در طول آزمایش در P1



نمودار ۶- میزان آمونیاک در طول آزمایش در P2

بحث

حذف موثر مواد آلی از جمله نیتروژن و فسفر از پساب با ترکیب محیط کشت و شرایط محیطی از جمله غلظت اولیه مواد مغذی، شدت نور، نسبت فسفر به نیتروژن، چرخه تاریکی و روشنایی و نوع گونه جلبکی مرتبط است. گونه کلرلا ولگاریس به طور

با توجه به نمودار ۶ میزان آمونیاک در طول آزمایش در غلظت‌های مختلف پساب و غلظت ثانویه جلبک ($26 \text{ million cell/mL}$) روند کاهشی داشته است و دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) است. بیشترین میزان آن به ترتیب مربوط به غلظت‌های ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد است.

کردند اما در آن مطالعه غلظت اولیه فسفات تنها در حدود 0.05 mg/L بود که در مقایسه با مقادیر به کار رفته در این مطالعه کمتر است (۲۶). Martinez و همکاران (۲۰۰۰) پس از بررسی جداسازی نیتروژن و فسفر پساب شهری توسط جلبک سبز سندسموس ابلیکوس گزارش کردند که این گونه توان بالایی برای رشد داخل پساب‌ها دارد زیرا قادر به تحمل محدوده وسیعی از دما و pH است (۲۱). Ansari و همکاران (۲۰۱۷) تصفیه پساب را به کمک جلبک‌های محلی برای تولید سوخت زیستی مورد مطالعه قرار دادند آنها مشاهده کردند جلبک‌های *Chlorella sp.* و *Scenedesmus sp.* به ترتیب قادر به حذف ۹۹/۷ درصد و ۹۸/۲ درصد نیترات، و ۸۰/۵ درصد و ۷۰ درصد فسفات هستند (۲۷). در مطالعه‌ای که توسط Alemu و همکاران (۲۰۱۸) بر روی بررسی حذف نیتروژن و فسفات از فاضلاب شهری به کمک ریزجلبک‌ها صورت گرفت جلبک‌های کلرلا، کلامیدوموناس، سندسموس از رده کلروفیتا جز گونه‌های غالب اعلام شدند. حداکثر حذف TN و TP به ترتیب ۹۱/۷۰ درصد و ۸۱/۸۲ درصد بود (۲۸). همانطور که بیان گردید در این مطالعه کلرلا نیز قادر به حذف مواد مغذی در تیمارهای رقیق‌تر بود. کلرلا قادر به استفاده از فسفر حتی در مقادیر بسیار کم است. نتایج حاصل از آنالیز آمونیاک نشان داد که بیشترین جذب آن در دوز اولیه جلبک ($13 \text{ million cell/mL}$) مربوط به تیمار ۲۵ درصد P۱ ($30/64$) است. در غلظت ثانویه جلبک ($26 \text{ million cell/mL}$) بیشترین جذب فسفات مربوط به تیمار ۷۵ درصد P۲ ($47/64$) است. با افزایش غلظت جلبک تزیق شده میزان جذب فسفات در پساب در رقت‌های بالا صورت گرفته است. رقیق‌تر کردن پساب نیز سبب کاهش درصد فسفات پساب و جذب سریع‌تر آن می‌گردد اما باید رقیق سازی به حدی باشد که بتواند مواد مغذی مورد نیاز رشد جلبک‌ها را فراهم نماید. کارایی حذف فسفات در مطالعات مختلف متغیر و وابسته به ترکیب محیط کشت و شرایط محیطی از قبیل غلظت اولیه مواد مغذی، شدت نور، نسبت نیتروژن به فسفر، سیکل تاریکی-روشنایی و گونه جلبکی است (۲۵). اگرچه Dumas و همکاران (۱۹۹۸) حذف کامل فسفر توسط سیانوباکتر فورمیدیوم بوهنری (*Phormidium bohneri*) را گزارش

گسترده توانایی خود را در جذب مواد مغذی و تصفیه فاضلاب نشان داده است (۱۸، ۲۲). با توجه به نتایج به دست آمده، بیشترین جذب نیترات در تیمار گروه اول جلبک ($1 \text{ million cell/mL}$) مربوط به تیمار ۵۰ درصد P۱ ($57/01$) و در غلظت ثانویه جلبک ($26 \text{ million cell/mL}$) مربوط به تیمار ۷۵ درصد P۲ ($29/15$) است. می‌توان چنین نتیجه گرفت با افزایش غلظت جلبک بیشترین میزان مواد مغذی در پساب در غلظت‌های بالای رقیق سازی دیده شد. که نتایج Abe و همکاران (۲۰۰۲) بر روی جلبک پولیا آئوره‌آ به منظور پالایش پساب نشان دادند که به علت داشتن سلول‌های مقاوم نسبت به غلظت‌های بالای یون نیترات می‌تواند ایفای نقش کند (۲۳). این خصوصیت در جلبک‌های کلرلا و سندسموس نیز به خوبی دیده می‌شود که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. همچنین AhmadKhan و همکاران (۲۰۱۳) توانستند تا ۹۷ درصد از نیترات پساب شهری را با استفاده از جلبک کلرلا حذف نمایند (۲۴).

یکی از فاکتورهای موثر در زمینه ارزیابی کارایی ریزجلبک‌های مختلف در بهبود کیفیت پساب میزان فسفات در آب است. یافته‌های این تحقیق نشان داد بیشترین جذب فسفات در دوز اولیه جلبک ($13 \text{ million cell/mL}$) مربوط به تیمار ۲۵ درصد P۱ ($30/64$) است. در غلظت ثانویه جلبک ($26 \text{ million cell/mL}$) بیشترین جذب فسفات مربوط به تیمار ۷۵ درصد P۲ ($47/64$) است. با افزایش غلظت جلبک تزیق شده میزان جذب فسفات در پساب در رقت‌های بالا صورت گرفته است. رقیق‌تر کردن پساب نیز سبب کاهش درصد فسفات پساب و جذب سریع‌تر آن می‌گردد اما باید رقیق سازی به حدی باشد که بتواند مواد مغذی مورد نیاز رشد جلبک‌ها را فراهم نماید. کارایی حذف فسفات در مطالعات مختلف متغیر و وابسته به ترکیب محیط کشت و شرایط محیطی از قبیل غلظت اولیه مواد مغذی، شدت نور، نسبت نیتروژن به فسفر، سیکل تاریکی-روشنایی و گونه جلبکی است (۲۵). اگرچه Dumas و همکاران (۱۹۹۸) حذف کامل فسفر توسط سیانوباکتر فورمیدیوم بوهنری (*Phormidium bohneri*) را گزارش

می‌توان چنین نتیجه گرفت بیشترین تعداد سلول در بالاترین درصد رقیق سازی است و با کاهش درصد رقیق سازی تعداد سلول کاهش می‌یابد. با توجه به اینکه غلظت جلبک تزریق شده دارای تعداد سلول بیشتری است. بنابراین برای رشد و تکثیر نیاز به محیطی دارد که از شفافیت بیشتری برخوردار باشد (۳۱).

Martinez و همکاران (۲۰۰۰) بیان کردند که وجود باکتری‌ها و پروتوزوا موجود در پساب می‌تواند بر روی مراحل رشد و تعداد سلول جلبک موجود در محیط کشت تاثیر به سزایی داشته باشد. از تعداد زیاد سلول‌های جلبکی در محیط کشت سایه‌ای بر روی دیگر سلول‌های جلبکی انداخته که مانع از رشد و تکثیر سلول‌ها می‌شود (۲۱).

Doshi و همکاران (۲۰۰۷) با تحقیقی که بر روی *Ph. bonheri* انجام دادند، نشان دادند که زیست توده جلبکی تولیدی وابستگی شدیدی به نیترات محیط کشت دارد و مقدار فسفات محیط کشت تاثیر چندانی بر روی زیست توده تولیدی ندارد زیرا این جلبک در طول دوره ۱۴ روزه بر روی پساب کشاورزی، نیترات محیط کشت را با غلظت ابتدایی ۱۴۵ mg/L، ۱۰۰ درصد جذب کرد این در حالی است که فسفات محیط کشت را با غلظت ۰/۸۱ mg/L ۶۷/۶، ۷۹ درصد جذب کرد و در انتهای دوره نیز ۰/۸۱ g/L زیست توده تولید کرد (۳۲). در مجموع جذب مواد مغذی (نیترات، فسفات و آمونیاک) از محیط کشتی که غلظت اولیه جلبک (۱۳ million cell/mL) به آن تزریق شده است نسبت به غلظت ثانویه جلبک (۲۶ million cell/mL) بیشتر است. زمانی که میزان جلبک تزریق شده به محیط کشت افزایش می‌یابد به دنبال افزایش تراکم سلولی کاهش نفوذ نور قابل مشاهده است بنابراین توانایی سلول‌ها برای جذب مواد مغذی و رشد سلولی کاهش می‌یابد. در این صورت برای بهبود شرایط در غلظت ثانویه جلبک هر چقدر درصد رقیق سازی بیشتر شود محیط برای رشد جلبک و حذف مواد مغذی افزایش می‌یابد.

Ruiz-Marín (۲۰۱۰) نشان دادند که نرخ بالای جذب شدن نیتروژن در محیط کشت (پساب) توسط دو گونه جلبک *S. obliquus* و *Ch. vulgaris* ممکن است به علت زیاد بودن مقدار آمونیاک موجود در پساب باشد که باعث تحریک جلبک‌ها به منظور جذب نیتروژن محیط کشت می‌شود. همچنین بیان کردند که این دو گونه جلبکی در ابتدا تحت تاثیر میزان آمونیوم موجود در پساب هستند و دیگر فرم‌های نیتروژن در مراحل بعدی قرار دارند، در انتهای دوره ۱۴ روزه جلبک سندسموس ۹۷ درصد و جلبک کلرلا ۸۹ درصد آمونیاک را جذب کرد (۳۰). بر طبق نتایج به دست آمده بیشترین تعداد سلول‌های جلبک در پساب با غلظت ۱۳ million cell/mL جلبک در طول زمان به ترتیب مربوط به تیمارهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد است. بیشترین تعداد سلول و رشد جلبک در غلظت ۲۵ درصد (۳۱۴۶۵۰۰ million cell/mL) است با افزایش درصد رقیق سازی تعداد سلول‌ها کاهش می‌یابد که می‌توان در پیرو کاهش میزان مواد مغذی دانست. در طول دوره آزمایش تا روز پنجم رشد سلول‌ها در مرحله تاخیری قرار دارند از آن لحظه به بعد رشد آنها ثابت می‌شود.

تحقیقات Ahmad Khan و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر روی پتانسیل جلبک کلرلا و لگاریس در تصفیه پساب در استخرهای شفاف و تاریک، یک روند کاملاً مشابه با نتایج مطالعه حاضر در زمینه رشد جلبک نشان داد. تحقیقات این محققین نشان داد که جلبک کلرلا در دو روز اول در فاز تاخیری (Lag Phase) به سر می‌برد، سپس نرخ رشد معنی‌داری را از خود بروز داده و رشد سلول‌ها تا روز ششم و هفتم ادامه پیدا کرد و سپس در این نقطه به فاز ساکن (Stationary Phase) رسیدند (۲۴). Wang و همکاران در سال ۲۰۱۳ میزان رشد جلبک کلرلا را برای ۱۰ روز در ۴ پساب متفاوت بررسی و مشاهده کردند که تا روز سوم جلبک در فاز تاخیری به سر می‌برد و در ۶ روز بعد رشد می‌نماید. که با مطالعه حاضر تطابق دارد. بیشترین تعداد سلول‌های جلبک در پساب با غلظت ۲۶ million cell/mL جلبک در طول زمان به ترتیب مربوط به تیمارهای ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد است.

نتیجه گیری

می توان چنین نتیجه گرفت که ریز جلبک کلرلا ولگاریس توانایی حذف مواد مغذی از پساب صنایع لبنی را دارد. زمانی که غلظت ریز جلبک کلرلا ولگاریس (گروه اول) ۱۳ million cell/mL است درصد بیشتری مواد مغذی (نیترات، فسفات، آمونیاک) نسبت به گروه دوم با غلظت ۲۶ million cell/mL حذف شد. با افزایش غلظت ریز جلبک به دلیل تراکم بالا زیست توده امکان نفوذ نور برای عمل فتوسنتز کاهش یافته و جذب مواد مغذی نیز کاهش می یابد. بیشترین درصد جذب فسفات و آمونیاک در هر دو غلظت ریز جلبک (۱۳ و ۲۶ million cell/mL) مربوط به غلظت ۲۵ درصد پساب و در مورد نیترات مربوط به غلظت های ۵۰ و ۷۵ درصد است.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان کلیه نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده ها و داده سازی را در این مقاله رعایت کرده اند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه با عنوان "بررسی حداکثر میزان چربی تجمع یافته در ریز جلبک کلرلا ولگاریس کشت یافته در پساب و فاضلاب صنایع لبنی با امکان تولید سوخت زیستی" در مقطع دکترا در سال ۱۳۹۵ است که با حمایت دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان اجرا شده است.

References

1. Gray NF. Biology of Waste Water Treatment. Oxford: Oxford University Press; 1989.
2. Horan NJ. Biological Wastewater Treatment Systems: Theory and Operation. New York: John Wiley & Sons; 1989.
3. Lim S-L, Chu W-L, Phang S-M. Use of *Chlorella vulgaris* for bioremediation of textile wastewater. *Bioresource Technology*. 2010;101(19):7314-22.
4. Abdel-Raouf N, Al-Homaidan A, Ibraheem I. Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2012;19(3):257-75.
5. Campbell WH. Nitrate reductase structure, function and regulation: bridging the gap between biochemistry and physiology. *Annual Review of Plant Biology*. 1999;50(1):277-303.
6. de la Noüe J, Proulx D. Biological tertiary treatment of urban wastewaters with chitosan-immobilized-*Phormidium*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 1988;29(2-3):292-97.
7. Zhu L, Wang Z, Shu Q, Takala J, Hiltunen E, Feng P, et al. Nutrient removal and biodiesel production by integration of freshwater algae cultivation with piggery wastewater treatment. *Water Research*. 2013;47(13):4294-302.
8. Abdo SM, El-Enin SA, El-Khatib K, El-Galad M, Wahba S, El Diwani G, et al. Preliminary economic assessment of biofuel production from microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2016;55:1147-53.
9. Reed SC, Crites RW, Middlebrooks EJ. *Natural Systems for Waste Management and Treatment*. New York: McGraw-Hill; 1995.
10. Lee Jr RE, Costanzo JP. Biological ice nucleation and ice distribution in cold-hardy ectothermic animals. *Annual Review of Physiology*. 1998;60(1):55-72.
11. Aziz M, Ng W. Feasibility of wastewater treatment using the activated-algae process. *Bioresource Technology*. 1992;40(3):205-208.
12. Hoffmann JP. Wastewater treatment with suspended and nonsuspended algae. *Journal of Phycology*. 1998;34(5):757-63.
13. Tam N, Wong Y. Wastewater nutrient removal by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus* sp. *Environmental Pollution*. 1989;58(1):19-34.
14. Abdel Hameed M. Effect of immobilization on growth and photosynthesis of the green alga *Chlorella vulgaris* and its efficiency in heavy metals re-

- removal. Bulletin of the Faculty of Science. Assiut University. 2002;31(1-D):233-40.
15. Hameed MA. Effect of algal density in bead, bead size and bead concentrations on wastewater nutrient removal. African Journal of biotechnology. 2007;6(10):1185-91.
16. Wang LK, Hung Y-T, Lo HH, Yapijakis C. Waste Treatment in the Food Processing Industry. Boca Raton: CRC Press; 2006.
17. Bohutskyi P, Kligerman DC, Byers N, Nasr LK, Cua C, Chow S, et al. Effects of inoculum size, light intensity, and dose of anaerobic digestion concentrate on growth and productivity of *Chlorella* and *Scenedesmus* microalgae and their poly-culture in primary and secondary wastewater. Algal Research. 2016;19:278-90.
18. Wang Z, Zhao Y, Ge Z, Zhang H, Sun S. Selection of microalgae for simultaneous biogas upgrading and biogas slurry nutrient reduction under various photoperiods. Journal of Chemical Technology & Biotechnology. 2016;91(7):1982-89.
19. Chevalier P, De la Noüe J. Efficiency of immobilized hyperconcentrated algae for ammonium and orthophosphate removal from wastewaters. Biotechnology Letters. 1985;7(6):395-400.
20. Zuliani L, Frison N, Jelic A, Fatone F, Bolzonella D, Ballottari M. Microalgae cultivation on anaerobic digestate of municipal wastewater, sewage sludge and agro-waste. International Journal of Molecular Sciences. 2016;17(10):E1692.
21. Martinez M, Sánchez S, Jimenez J, El Yousfi F, Muñoz L. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. Bioresource Technology. 2000;73(3):263-72.
22. Monroy HO, Vázquez MF, Derramadero JC, Guyot JP. Anaerobic-aerobic treatment of cheese wastewater with national technology in Mexico: The case of "El Sauz". Water Science and Technology. 1995;32(12):149-56.
23. Abe K, Imamaki A, Hirano M. Removal of nitrate, nitrite, ammonium and phosphate ions from water by the aerial microalga *Trentepohlia aurea*. Journal of Applied Phycology. 2002;14(2):129-34.
24. Ahmad F, Khan AU, Yasar A. The potential of *Chlorella vulgaris* for wastewater treatment and biodiesel production. Pakistan Journal of Botany. 2013;45(S1):461-65.
25. Carawan RE, Jones V, Hansen A. Wastewater characterization in a multiproduct dairy. Journal of Dairy Science. 1979;62(8):1243-51.
26. Dumas A, Laliberte G, Lessard P, De La Noüe J. Biotreatment of fish farm effluents using the cyanobacterium *Phormidium bohneri*. Aquacultural Engineering. 1998;17(1):57-68.
27. Ansari AA, Khoja AH, Nawar A, Qayyum M, Ali E. Wastewater treatment by local microalgae strains for CO₂ sequestration and biofuel production. Applied Water Science. 2017;7(7):4151-58.
28. Alemu K, Assefa B, Kifle D, Kloos H. Nitrogen and Phosphorous Removal from Municipal Wastewater Using High Rate Algae Ponds. INAE Letters. 2018;3(1):21-32.
29. Singh NK, Dhar DW. Nitrogen and phosphorous scavenging potential in microalgae. Indian Journal of Biotechnology. 2007;6:52-56.
30. Ruiz-Marin A, Mendoza-Espinosa LG, Stephenson T. Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. Bioresource Technology. 2010;101(1):58-64.
31. Wang C, Yu X, Lv H, Yang J. Nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater by the green alga *Chlorella* sp. Journal of Environmental Biology. 2013;34(2 suppl):421-25.
32. Doshi H, Ray A, Kothari I. Biosorption of cadmium by live and dead *Spirulina*: IR spectroscopic, kinetics, and SEM studies. Current Microbiology. 2007;54(3):213-18.



Available online: <http://ijhe.tums.ac.ir>

Original Article



Use of *Chlorella vulgaris* microalgae in the treatment of dairy wastewater

M Khalaji^{1,*}, SA Hiseini¹, R Ghorbani¹, N Agh², H Rezayi³

1- Department of Aquatic Production and Exploitation, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Recourses, Gorgan, Iran

2- Artemia and Aquaculture Research Institute, Department of Biology and Reproduction, Faculty of Fisheries, Urumieh University, Urumieh, Iran

3- Department of Environment, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Recourses, Gorgan, Iran

ARTICLE INFORMATION:

Received: 13 April 2019

Revised: 1 July 2019

Accepted: 6 July 2019

Published: 4 September 2019

ABSTRACT

Background and Objective: Nutrient-rich effluents (mainly nitrogen and phosphorus) may lead to algae blooms and many harmful effects in aquatic environments. Micro-algae have been more effective among the various methods used for the removing of nutrients from wastewater. Microalgae *Chlorella vulgaris* has specific characteristics such as rapid growth, resistant to systems manipulation, simple and inexpensive production technology, as well as the rapid uptake of nutrients such as phosphate and nitrate.

Materials and Methods: In the present study, two concentrations of *chlorella vulgaris* microalgae (13 and 26 million cells/mL) were injected into dairy effluent, diluted using distilled water by 25, 50 and 75%, and the amount of nutrient removal and microalgae growth were examined during the growth period.

Results: Results indicated that different concentrations of algae at various percentages of dilution (25, 50, 75%) had a significant effect on the removal of nutrients and algal growth ($p < 0.05$). The absorption of nutrients (nitrate, phosphate and ammonia) were 57.01, 51.84 and 43.15 percent respectively that containing lower density of initial algae compared to the treatments of 2nd group (29.15, 51.84 and 43.15 percent) with higher algae concentration. In both algal concentrations, the highest percentage of phosphate and ammonia adsorption were in dilution of 25% effluent and the highest percentage of nitrate adsorption were in the first group with 50% dilution and in the second group with 75% dilution.

Conclusion: The more percentage of nutrients (nitrate, phosphate, ammonia) was eliminated compared to the second group (26 million cells / mL) when the microalgae concentration (group I) was 13 million cells / mL. Absorption of nutrients was decreased by increasing the concentration of microalgae. Regarding to the percentage of nitrate adsorption, the higher absorbance in the dilution was occurred at the highest concentration of algae.

Keywords: Microalgae *Chlorella Vulgaris*, Effluent, Dairy industry, Nutrients, Biodegradation

*Corresponding Author:

mahtabkhalaji24@gmail.com