مجله سلامت و محیط زیست، فصلنامه‌ی علمی پژوهشی
انجمن علمی بهداشت محیط ایران
دوره دوازدهم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۸، صفحات ۳۰۷ تا ۳۱۸

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 اق[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 آرتمیا 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

اطلاعات مقاله:

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

واژگان کلیدی: ریزجلبک کلرلا ولگاریس، پساب، صنایع لبنی، مواد مغذی، تصفیه زیستی

پست الکترونیکی نویسنده مسئول:
mahtabkhalaji24@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: وجود مواد مغذی در پساب (عمدتا 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 به‌کار 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 نیترات است.

روش بررسی: در تحقیق حاضر دو غلظت از ریزجلبک کلرلا ولگاریس (۱۳ million cell/mL و ۲۶) 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.

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 (نیترات، 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 نیترات در گروه اول مربوط به رقت ۵۰ درصد و در گروه دوم مربوط به رقت ۷۵ درصد است.

نتیجه‌گیری: زمانی‌که غلظت ریزجلبک 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 ریزجلبک جذب مواد مغذی کاهش می‌یابد. در مورد درصد جذب نیترات هر چقدر غلظت جلبک افزایش یابد در رقیق سازی بیشتر جذب صورت می‌گیرد.

Please cite this article as: Khalaji M, Hiseini SA, Ghorbani R, Agh N, Rezayi H. Use of Chlorella vulgaris microalgae in the treatment of dairy waste-water. Iranian Journal of Health and Environment. 2019;12(2):307-18.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2022-08-18]

مقدمه

مواد دفعی موجود در آب منعکس کننده مدل زندگی و جوامع آبزی است (۱). ¾ 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. اخیرا *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 زنوبیوتیک‌ها (Xenobiotic) از پساب‌ها اشاره دارد که در مقیاس وسیعی در سیستم‌های تصفیه فاضلاب مورد استفاده قرار گرفته است (۱۰-۸). 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 (۱۴-۱۲). دو گونه از ریزجلبک‌های *Chlorella vulgaris* و *Scenedesmus acuminatus* به دلیل نرخ رشد بالا برای تصفیه فاضلاب پیشنهاد شدند (۱۸-۱۵) صنایع لبنی یکی از منابع مهم و عمده فاضلاب است. صنایع شیر به‌طور متوسط بین million m^3 ۳/۷۳۹ تا ۱۱/۲۱۷ 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

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2022-08-18]

تفـاوت در تولیـد، تغییـر می‌کند و همچنین میـزان و غلظت فاضـلاب در واحد تولیدی تغییر می‌کند (۱۸). ریزجلبک کلرلا به‌علـت رشد بـالا و مقاومتش به دست‌کـاری در سیستم‌های پرورشـی و همچنین فناوری سـاده و ارزان تولید، می‌تواند در تصفیه پساب مفید باشد (۱۹). از این‌رو جلبک کلرلا در بسیاری از مطالعـات به منظور جداسـازی نیتروژن و فسفر به‌کار گرفته شـده و نتایج مثبتی نیـز از به‌کارگیری آن به‌دست آمده است. هدف از این مطالعه بررسی توانایی ریزجلبک کلرلا ولگاریس 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 تحقیـق حاضر تصفیه زیستی پساب با هزینـه کمتر و به‌صورت اقتصادی و تولید انبوه ریزجلبک کلرلا ولگاریس بدون نیاز به آب و زمین فراوان است.

مواد و روش‌ها

کشت ریزجلبک:

استـوک ریزجلبک کلـرلا ولگاریس از پژوهشکـده دریای خزر تهیه و به آزمایشگـاه فایکولب دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعـی گرگان منتقـل شد. قبل از شروع کشـت، اتاق کشت به‌وسیله لامپ UV به مدت نیم ساعت استریل گردید. تمامی وسایـل در آون 180^0C به مـدت ۱ h خشک و ارلن مایرهای حاوی محیـط کشت در دستگاه اتوکلاو به‌طـور کامل استریل شدند. از محیط کشت BG_{11} برای کشت اولیه جلبک استفاده شـد. کشت جلبک در دمـای ۲۲ تا $25\ ^0C$ و شدت نور Lux ۳۵۰۰±۳۵۰ نوری و دوره نـوری (تاریکی:روشنایی) (۱۲:۱۲) طی ۱۴ روز کشت داده شد (۲۰). پس از رشد، جلبک‌ها با آب مقطـر دیونیزه شستشو داده شد تـا واسطه‌هایی که باعث رشد شدند از جلبک خارج شوند.

تهیه نمونه پساب:

نمونه پساب از کارخانه شیر تهیه و به آزمایشگاه فایکولب انتقال داده شـد (نمـودار ۳) و برای حذف ذرات بـزرگ فیلتر کرده و اتوکـلاو شد سپس به کمک آب مقطر به صورت ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد رقیـق کرده سپس ریزجلبـک را در آنها کشت داده در نهایـت مقدار مـواد مغذی نیترات و فسفـات 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 به‌صورت زیر است:

P۱ ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد، پساب رقیق شده به‌ترتیب با ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد آب و غلظت اولیه جلبک (۱۳ million cell/mL)

P۲ ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد، پساب رقیق شده به‌ترتیب با ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد آب و غلظت اولیه جلبک (۲۶ million cell/mL)

اندازه گیری مواد مغذی:

بـرای اندازه‌گیری مـواد مغذی، نیترات و فسفـات از کیت‌های شرکـت وگتک و دستگـاه فتومتر استفاده شد کـه این اندازه گیری یک روز در میان انجام گرفت.

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

$$W\% = (C_0 - Ci)/C_0 \times ۱۰۰ \qquad (۱)$$

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:

شمـارش جلبک‌ها با استفـاده از لام هموسیتومتری و با روش پیشنهاد شده توسط Martinez و همکاران (۲۰۰۰) به‌صورت روزانـه انجام شد. در این روش مقدار ۰/۱ 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 کاملا تصادفی در قالب فاکتوریل بـا استفـاده از ۲ فاکتور شامـل فاکتور اول غلظـت پساب در ۳ سطـح (۲۵، ۵۰، ۷۵ درصـد)، فاکتـور دوم غلظـت جلبک *C.vulgaris* در دو سطـح (۱۳ و ۲۶ million cell/mL) در ۳ تکرار انجام گرفت. ابتدا نرمال بودن داده‌های خام با آزمون

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2022-08-18]

کولموگـروف- اسمیرنـوف (Kolmogorov–Smirnov) بررسی شد، داده‌های نرمال با تجزیه واریانس دو طرفه (Two-way Anova) بررسی شد و برای مقایسه میانگین تیمارهای مختلـف از آزمون LSD در سطـح اطمینان p=۰/۰۵ استفاده شد. بررسی روند حذف مـواد آلی در زمان از آزمون رگرسیون و جهـت بررسی ارتباط بیـن پارامترهای مـورد اندازه‌گیری از آزمون همبستگی توسط نرم افزار SPSS,17 و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

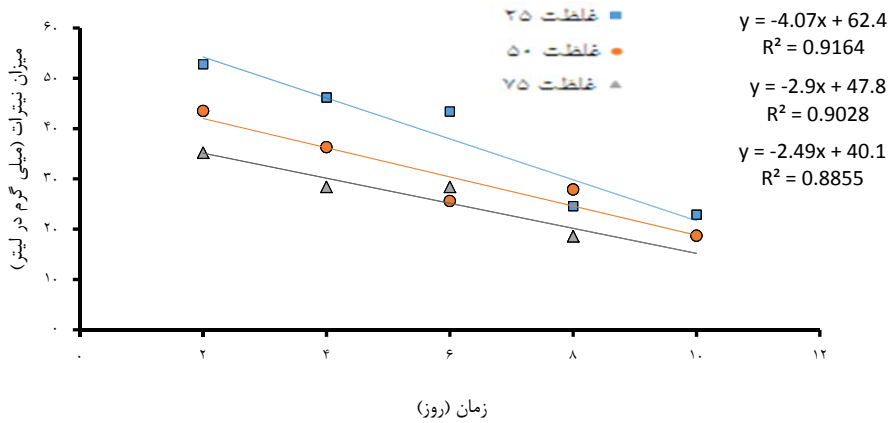
یافته‌ها

نیترات و فسفات:

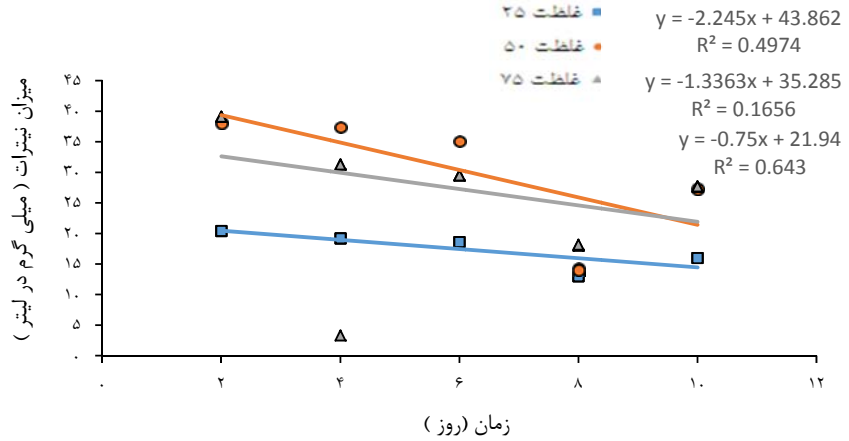
مقادیـر فسفات و نیترات در پساب‌ها به‌عنوان مواد مغذی اصلی فراوان است. کارایی جذب و مقدار حذف شده فسفات و نیترات در طول دوره آزمایش مورد بررسی قرار گرفت.

با توجه به نمودار ۱ میزان نیترات در طول آزمایش در غلظت‌های مختلف پساب و غلظت اولیه جلبک (۱۳ million cell/mL) روند کاهشـی داشته است و این کاهـش معنی‌دار (p<۰/۰۵) اسـت. بیشترین شیب کاهش به ترتیـب 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) رونـد کاهشی داشته است و این کاهـش معنی‌دار (p<۰/۰۵) اسـت. بیشترین شیب کاهش به ترتیـب 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

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2022-08-18]

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

تیمار / فاکتور	P۱ ٪۲۵	P۱ ٪۵۰	P۱ ٪۷۵
نیترات	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=۰/۰۵ است.

جدول ۱ نشان می‌دهد بیشترین درصد جذب نیترات (۵۷/۰۱ درصد) مربوط به تیمار ۵۰ درصد P۱ هست. بین درصد جذب نیترات و فسفات و آمونیاک در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری (p<۰/۰۵) 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 نیترات (۲۹/۱۵ درصد) مربوط به تیمار۷۵ درصد P۲ است. بین درصد جذب نیترات و فسفات و آمونیاک در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری (p<۰/۰۵) وجود دارد و کمترین درصد جذب نیترات 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.

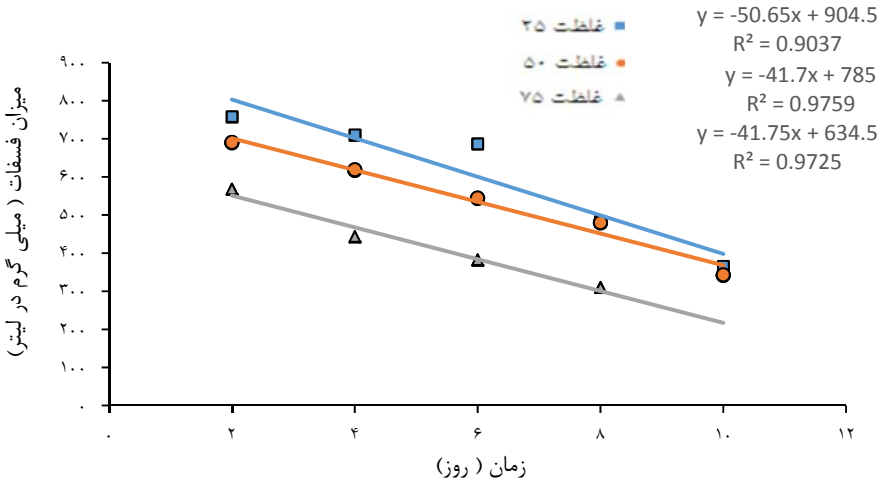
با توجه به نمودار ۳ میزان فسفات در طول آزمایش در غلظت‌های مختلف پساب و غلظت اولیه جلبک (۱۳ million cell/mL) روند کاهشی داشته است و دارای اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) است. بیشترین میزان آن به ترتیب مربوط به غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد است.

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

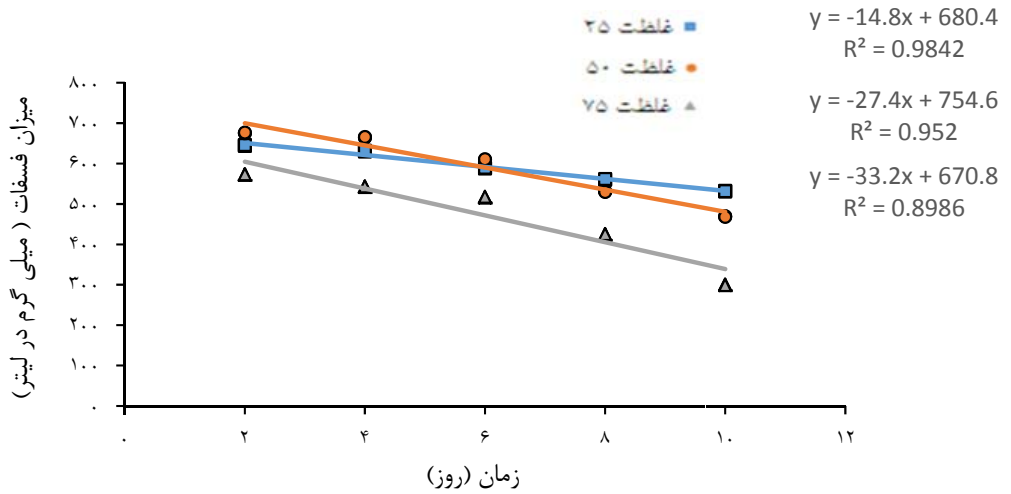
فاکتور/ تیمار	P۲ ٪۲۵	P۲ ٪۵۰	P۲ ٪۷۵
نیترات	۲۱/۵۶[l]	۲۸/۳۴[i]	۲۹/۱۵ [g]
فسفات	۵۱/۸۴[l]	۵۰/۴۳[i]	۴۵/۴۲[g]
آمونیاک	۴۳/۱۵[j]	۳۴/۰۶[f]	۳۰/۳۳[c]

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در طول دوره آزمایشی در سطح p= ۰/۰۵ است.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2022-08-18]



نمودار ۳- میزان فسفات در طول آزمایش در P1

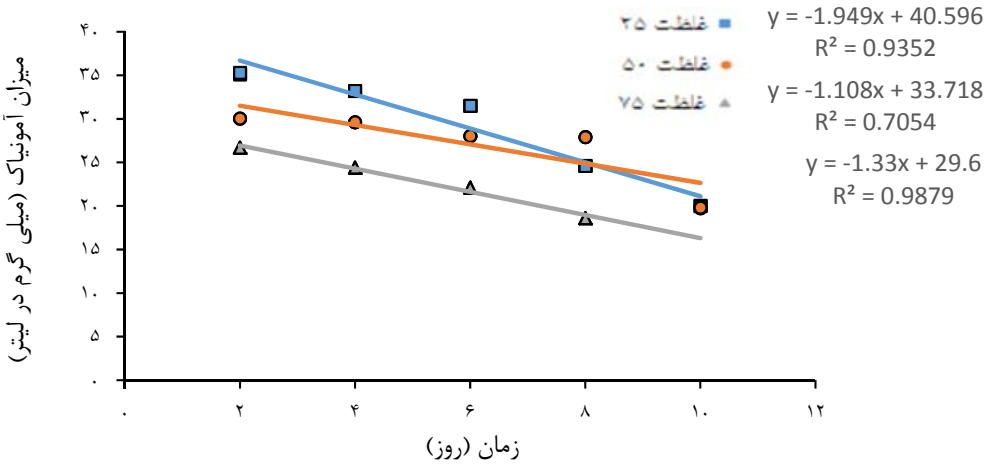


نمودار ۴- میزان فسفات در طول آزمایش در P2

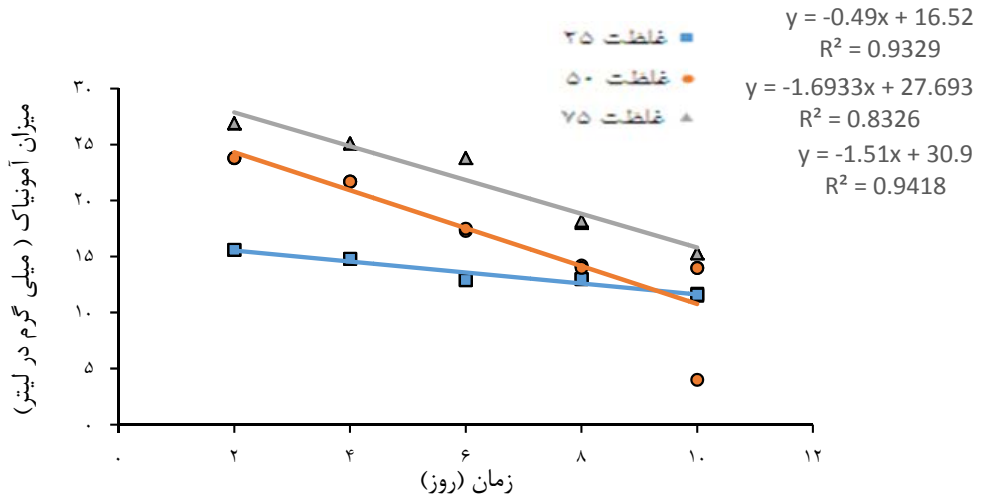
با توجه به نمودار ۴ میزان فسفات در طول آزمایش در غلظت‌های مختلف پساب و غلظت ثانویه جلبک (۲۶ million cell/mL) روند کاهشی داشته است و دارای اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) است. بیشترین میزان آن بـه ترتیب مربوط به غلظت‌های ۵۰، ۲۵ و ۷۵ درصد است.

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 ($p<۰/۰۵$) است. بیشترین میزان آن بـه ترتیب مربوط به غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد است.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2022-08-18]



نمودار ۵- میزان آمونیاک در طول آزمایش در P1



نمودار ۶- میزان آمونیاک در طول آزمایش در P2

با توجه به نمودار ۶ میزان آمونیاک در طول آزمایش در غلظت‌های مختلف پساب و غلظت ثانویه جلبک (۲۶ million cell/mL) روند کاهشی داشته است و دارای اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) است. بیشترین میزان آن بـه ترتیب مربوط به غلظت‌های ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد است.

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، نسبـت فسفر به نیتروژن، چرخه تاریکی و روشنایی و نـوع گونه جلبکی مرتبط است. گونه کلـرلا ولگاریس به‌طور

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2022-08-18]

گستـرده توانایی خود را در جذب مواد مغذی و تصفیه فاضلاب نشـان داده اسـت (۱۸، ۲۲). با توجه به نتایـج به‌دست آمده، بیشتریـن جذب نیترات در تیمـار گروه اول جلبک (million cell/mL ۱۳) مربـوط بـه تیمار ۵۰ درصـد P۱ (۵۷/۰۱) و در غلظت ثانویه جلبـک (۲۶ million cell/mL) مربوط به ۷۵ درصد P۲ (۲۹/۱۵) اسـت. می‌توان چنین نتیجه گرفت با افزایش غلظـت جلبک بیشترین میزان مـواد مغذی در پساب در غلظت‌هـای بالای رقیق سازی دیـده شد. که نتایج Abe و همکـاران (۲۰۰۲) بر روی جلبک پولیا آئوره‌آ به منظور پالایش پساب نشان دادند که بـه علت داشتن سلول‌های مقاوم نسبت بـه غلظت‌هـای بالای یون نیتـرات می‌تواند ایفـای نقش کند (۲۳). این خصوصیت در جلبک‌های کلرلا و سندسموس نیز به خوبی دیده می‌شود که با نتایـج تحقیق حاضر همخوانی دارد. همچنین AhmadKhan و همکاران (۲۰۱۳) توانستند تا ۹۷ درصـد از نیترات پسـاب شهری را با استفـاده از جلبک کلرلا حذف نمایند (۲۴).

یکی از فاکتورهای موثر در زمینه ارزیابی کارایی ریزجلبک‌های مختلـف در بهبـود کیفیت پساب میزان فسفـات در آب است. یافته‌هـای ایـن تحقیـق نشـان داد بیشترین جـذب فسفات در دوز اولیـه جلبـک (۱۳ million cell/mL) مربـوط به تیمـار ۲۵ درصد P۱ (۳۰/۶۴) اسـت. در غلظت ثانویه جلبک (۲۶ million cell/mL) بیشتریـن جذب فسفات مربوط به ۷۵ درصـد P۲ (۴۷/۶۴) است. با افزایش غلظت جلبک تزریق شده میزان جـذب فسفات در پسـاب در رقت‌های بالا صورت گرفتـه اسـت. رقیق‌تر کـردن پساب نیز سبـب کاهش درصد فسفات پساب و جذب سریع‌تر آن می‌گردد اما باید رقیق سازی بـه 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 اولیـه مواد مغذی، شدت نور، نسبـت نیتروژن به فسفر، سیکل تاریکی-روشنایـی و گونه جلبکی است (۲۵). اگرچه Dumas و همکـاران (۱۹۹۸) حـذف کامـل فسفر توسـط سیانوباکتر فورمیدیوم بوهنـری (Phormidium bohneri) را گزارش کردنـد امـا در آن مطالعه غلظت اولیه فسفـات تنها در حدود ۰/۰۵ mg/L بـود که در مقایسـه با مقادیر به‌کار رفته در این مطالعه کمتراست (۲۶). Martinez و همکاران (۲۰۰۰) پس از بررسی جداسازی نیتروژن و فسفر پساب شهری توسط جلبک سبز سندسمـوس ابلیکوس گزارش کردند کـه 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) تصفیـه پساب را به کمک جلبک‌های محلی برای تولید سوخت زیستی مورد مطالعه قرار دادند آنها مشاهده کردند جلبک‌های *Scenedesmus sp.* و *Chlorella sp.* بـه ترتیـب قادر به حذف ۹۹/۷ درصد و ۹۸/۲ درصد نیترات، و ۸۰/۵ درصد و ۷۰ درصد فسفات هستنـد (۲۷). در مطالعه‌ای که توسط Alemu و همکـاران (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 غالـب اعلام شدند. حداکثر حذف TN و TP به ترتیب ۹۱/۷۰ درصـد و ۸۱/۸۲ درصد بـود (۲۸). همانطور که بیان گردید در ایـن مطالعه کلرلا نیز قادر به حذف مـواد مغذی در تیمارهای رقیق‌تر بود. کلرلا قادر به استفاده از فسفر حتی در مقادیر بسیار کم است. نتایج حاصـل از آنالیز آمونیاک نشان داد که بیشترین جـذب آن در دوز اولیه جلبـک (۱۳ million cell/mL) مربـوط به تیمـار ۲۵ درصـد P۱ (۴۳/۱۵) و در غلظت ثانویه جلبـک (۲۶ million cell/mL) مربوط به تیمار ۲۵ درصد P۲ (۴۳/۱۲) است. Singh و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که جلبـک *S. quadricauda* توانایی حذف آمونیاک و نیتریت را بـه میزان ۶۸ درصد و ۷۳ درصـد را در طول دوره ۲۱ روزه بـا غلظت اولیـه ۰/۱۰۸ mg/L و ۰/۶۲۳ دارد. همچنین اعلام کردنـد که بین حـذف نیتروژن پساب بـا وزن خشک و تعداد سلـول جلبکی همبستگی وجـود دارد به‌طوری‌کـه با افزایش وزن خشـک و تعداد سلول جلبکـی، درصد آمونیاک و نیتریت بیشتری از پساب حذف می‌یابد (۲۹)، که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. نتایج به‌دست آمده از تحقیق Singh (۲۰۰۷) تایید کننده نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر است.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2022-08-18]

Ruiz-Marin (۲۰۱۰) نشـان دادنـد که نـرخ بالای جذب شـدن نیتروژن در محیط کشت (پساب) توسط دو گونه جلبک *S. obliquus* و *Ch. vulgaris* ممکـن اسـت به علت زیاد بودن مقـدار آمونیاک موجود در پسـاب باشد که باعث تحریک جلبک‌هـا به منظـور جذب نیتـروژن محیط کشـت می‌شود. همچنیـن بیـان کردند که این دو گونه جلبکـی در ابتدا تحت تاثیر میزان آمونیوم موجـود در پساب هستند و دیگر فرم‌های نیتروژن در مراحل بعدی قـرار دارند، در انتهای دوره ۱۴ روزه جلبک سندسموس ۹۷ درصد و جلبک کلرلا ۸۹ درصد آمونیاک را جذب کرد (۳۰). بر طبق نتایج به‌دست آمده بیشترین تعداد سلول‌های جلبک در پساب با غلظت ۱۳ million cell/mL جلبـک در طول زمان به ترتیب مربوط به تیمارهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد است. بیشترین تعداد سلول و رشد جلبک در غلظت ۲۵ درصـد (۳۱۴۶۵۰۰ million cell/mL) است با افزایش درصد رقیق‌سازی تعداد سلول‌ها کاهش می‌یابد که می‌توان در پیرو کاهش میزان مـواد مغذی دانست. در طول دوره آزمایش تـا روز پنجم رشد سلول‌هـا در مرحله تاخیری قرار دارند از آن لحظه به بعد رشد آنها ثابت می‌شود.

تحقیقـات Ahmad Khan و همکـاران در سـال ۲۰۱۳ بر روی پتانسیـل جلبک کلـرلا ولگاریس در تصفیـه پساب در استخرهـای شفـاف و تاریک، یک روند کامـلا مشابه با نتایج مطالعـه حاضـر در زمینه رشـد جلبک نشـان داد. تحقیقات ایـن محققین نشـان داد که جلبک کلـرلا در دو روز اول در فـاز تاخیری (Lag Phase) به سـر می‌برد، سپس نرخ رشد معنـی‌داری را از خود بروز داده و رشـد سلول‌ها تا روز ششم و هفتـم ادامه پیدا کـرد و سپس در این نقطـه به فاز ساکن (Stationary Phase) رسیدنـد (۲۴). Wang و همکاران در سـال 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 بـا غلظت ۲۶ million cell/mL جلبک در طول زمان به ترتیب مربوط به تیمارهای ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد است.

می‌توان چنین نتیجه گرفت بیشترین تعداد سلول در بالاترین درصـد رقیق سازی است و با کاهش درصد رقیق سازی تعداد سلـول کاهش می‌یابد. با توجه بـه اینکه غلظت جلبک تزریق شـده دارای تعداد سلول بیشتری اسـت. بنابراین برای رشد و تکثیـر نیاز به محیطی دارد کـه از شفافیت بیشتری برخوردار باشد (۳۱).

Martinez و همکـاران (۲۰۰۰) بیـان کردنـد کـه وجـود باکتری‌هـا و پروتوزوآ موجود در پساب می‌تواند بر روی مراحل رشـد و تعداد سلـول جلبک موجود در محیـط کشت تاثیر به سزایـی 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 همکـاران (۲۰۰۷) بـا تحقیقـی کـه بـر روی *Ph. bonheri* انجـام دادنـد، نشـان دادنـد کـه زیسـت توده جلبکی تولیـدی وابستگـی شدیـدی به نیتـرات محیط کشـت دارد و مقدار فسفـات محیط کشت تاثیـر چندانی بر روی زیسـت توده تولیدی ندارد زیرا این جلبک در طول دوره ۱۴ روزه بـر روی پسـاب کشاورزی، نیتـرات محیط کشت را با غلظـت ابتدایـی ۱۴۵ mg/L، ۱۰۰ درصد جذب کرد این در حالـی است که فسفات محیط کشـت را با غلظت ۶۷/۶ mg/L، ۷۹ درصـد جذب کرد و در انتهای دوره نیز ۰/۸۱ g/L زیست تـوده تولید کرد (۳۲). در مجمـوع جذب مواد مغذی (نیتـرات، فسفات و آمونیاک) از محیط کشتی که غلظت اولیه جلبـک (۱۳ million cell/mL) بـه آن تزریـق شده است نسبـت بـه غلظت ثانویه جلبـک (۲۶ million cell/mL) بیشتـر است. زمانی‌که میـزان جلبک تزریق شـده به محیط کشـت افزایش می‌یابد به دنبـال افزایش تراکم سلولی کاهش نفـوذ نور قابل مشاهـده است بنابراین توانایـی سلول‌ها برای جذب مواد مغذی و رشد سلولی کاهش می‌یابد. در این صورت بـرای بهبود شرایط در غلظت ثانویـه جلبک هر چقدر درصد رقیق‌سـازی بیشتر شود محیط برای رشد جلبک و حذف مواد مغذی افزایش می‌یابد.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2022-08-18]

نتیجه‌گیری

می‌توان چنین نتیجه گرفت که ریزجلبک کلرلا ولگاریس توانایی حذف مواد مغذی از پساب صنایع لبنی را دارد. زمانی که غلظت ریزجلبک 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 ریزجلبک به دلیل تراکم بالا زیست توده امکان نفوذ نور برای عمل فتوسنتز کاهش یافته و جذب مواد مغذی نیز کاهش می‌یابد. بیشترین درصد جذب فسفات و آمونیاک در هر دو غلظت ریزجلبک (۱۳ و ۲۶ million cell/mL) مربوط به غلظت ۲۵ درصد پساب و در مورد نیترات مربوط به غلظت‌های ۵۰ و ۷۵ درصد است.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان کلیه نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه با عنوان "بررسی حداکثر میزان چربی تجمع بافته در ریزجلبک 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-

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2022-08-18]

moval. 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 centrate 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. Martınez M, Sánchez S, Jimenez J, El Yousfi F, Munoz 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.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2022-08-18]

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

Original Article

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

M Khalaji[1,*], SA Hiseini[1], R Ghorbani[1], N Agh[2], H Rezayi[3]

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

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

***Corresponding Author:**

mahtabkhalaji24@gmail.com

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.

Please cite this article as: Khalaji M, Hiseini SA, Ghorbani R, Agh N, Rezayi H. Use of Chlorella vulgaris microalgae in the treatment of dairy wastewater. Iranian Journal of Health and Environment. 2019;12(2):307-18.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2022-08-18]