# بررسی توانایی جذب نیترات و فسفات از پساب استخرهای پرورش ماهیان گرمابی استان خوزستان توسط ریزجلبک *Chlorella vulgaris*


- **لاله آذرم:** گروه مهندسی محیط زیست، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
- **نرگس جوادزاده*:** گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
- **رضا جلیل‌زاده:** گروه مهندسی محیط زیست، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران


تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۸

## چکیده

**فاضلاب‌ها می‌توانند منابع آبی را آلوده نمایند به‌همین علت امروزه تاکید بسیاری بر تصفیه و پاک‌سازی فاضلاب‌ها و پساب‌ها می‌شود. یکی از روش‌های کاربردی در تصفیه فاضلاب، استفاده از گیاهان از جمله میکروجلبک‌ها می‌باشد که با استفاده از نور خورشید، مواد مغذی فاضلاب را مصرف کرده و آن را به توده‌های زیستی مفید تبدیل می‌کنند. لذا در این پژوهش قابلیت حذف برخی پارامترهای آلودگی پساب با استفاده از میکروجلبک *Chlorella vulgaris* مورد آزمایش قرار گرفت. بدین‌منظور برای رشد میکروجلبک از آب مقطر اتوکلاو شده و محیط کشت TMRL استفاده شد، پساب مورد استفاده از استخر پرورش ماهیان گرمابی استان خوزستان تهیه گردید. رشد میکروجلبک در تیمار شاهد و تیمار پساب هر ٤٨ ساعت یک‌بار و در شرایط آزمایشگاهی ثابت (دمای ۲۷-۲۳ درجه سانتی‌گراد، شوری ppt۲۰ و شدت نوری ۲۵۰۰ لوکس) در بازه زمانی ۱۵ روز محاسبه شد. شاخص‌های COD، BOD، نیترات، نیتریت و فسفات هر ٤٨ ساعت یک‌بار اندازه‌گیری و محاسبه شدند. نتایج حاصل از آنالیز آماری بین بازه‌های زمانی مختلف در تعداد ریزجلبک در تیمار شاهد تغییر معنی‌داری نشان داد به‌طوری‌که بالاترین تعداد جلبک در روز یازدهم مشاهده شد ولی از روز چهاردهم به بعد کاهش نسبی یافت، هم‌چنین نتایج حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در میزان حذفBOD وCOD درکشت ریزجلبک بود به‌طوری‌که کم‌ترین میزان این دو فاکتور در روز دهم مشاهده گردید. نیترات باقی‌مانده نیزبه‌ترتیب در روز سوم و دهم بیش‌ترین و کم‌ترین میزان را به‌خود اختصاص داد. میزان نیتریت نیز در روز سوم بالاترین و در روز پانزدهم پایین‌ترین مقدار را داشت، فسفات نیز در روزهای سوم، پنجم، دهم و پانزدهم نسبت به روز اول کاهش معنی‌دار نشان داد. این نتایج، توانایی ریزجلبک را در کاهش ازت و فسفر پساب و امکان کاربرد آن جهت تصفیه پساب نشان داد، به‌نظر می‌رسد که این ریزجلبک قادر است برای حذف نیترات و فسفات و نیز تولید زیست توده جلبکی در سیستم‌های پالایش پساب خروجی استخرهای پرورش ماهی، قبل از ورود به محیط طبیعی مورد استفاده قرار گیرد، هم‌چنین پساب استخر می‌تواند به‌عنوان محیط کشتی مناسب برای تولید انبوه این جلبک مورد استفاده قرار گیرد.**

**کلمات کلیدی:** کلرلا، BOD، COD، نیترات، فسفات، پساب



* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: nargesjavadzadeh@yahoo.com

## مقدمه

امروزه ازدیاد جمعیت انسانی و مصرف بی‌رویه منابع، منجر به تولید ضایعات و به‌دنبال آن پساب و فاضلاب بیش‌تری شده است که دفع این آلاینده‌ها یکی از مشکلات بشر امروزی است. پساب‌ها معمولاً دارای مقادیر بالایی از مواد مغذی مانند نیتروژن و فسفر می‌باشند که رهاسازی آن‌ها در محیط‌های طبیعی می‌تواند منجر به یوتریفیکاسیون آب‌ها گردد. بنابراین نیاز مبرم به تصفیه پساب‌ها وجود دارد. یکی از روش‌های تصفیه پساب استفاده از روش تصفیه بیولوژیکی است که دارای مزایای متعددی می‌باشد از آن جمله می‌توان به عدم ایجاد خطرات زیست‌محیطی با تکیه بر اصول اکوسیستم‌های طبیعی، عدم ایجاد آلودگی ثانویه و هم‌چنین توانایی ریزجلبک‌ها در بازچرخش مواد مغذی موجود در پساب‌های ثانویه اشاره کرد (Martinez و همکاران، ۲۰۰۰). تصفیه پساب به‌وسیله کشت‌های جلبکی ابزاری ارزان و کارآمد برای حذف مواد غذایی و فلزات آلاینده، به‌خصوص فلزات سنگین می‌باشد که خود باعث ایجاد ایمنی اکولوژی در اکوسیستم‌های آبی می‌شوند (Tam و Wong، ۱۹۹۶). ریزجلبک‌ها از گروه گیاهان آبزی می‌باشند و امروزه کاربرد وسیعی در علم زیست‌فناوری دارند. این فتوسنتز کنندگان میکروسکوپی، تقریباً در تمام آب‌های کره زمین یافت می‌شوند. اهمیت این گروه از موجودات زنده در ارزش بالای تغذیه‌ای، پتانسیل تولید ترکیبات زیست فعال با کاربردهای متنوع در صنایع غذایی و داروسازی، کاربرد به‌عنوان ماده خام جهت استخراج سوخت‌های زیستی سازگار با محیط‌زیست، کاربرد در پایش آلاینده‌های زیست‌محیطی و... می‌باشد (آخوندیان و میرحسن‌نیا، ۱۳۹۶). ریزجلبک *Chlorella* متعلق به شاخه کلروفیتا بوده و به‌صورت تک‌سلولی بسیار کوچک و کروی است. تمامی گونه‌های آن در آب‌های شیرین و خاک و بعضی دیگر به‌صورت هم‌زیست در ساختار گلسنگ‌ها دیده می‌شوند. این ریزجلبک دارای رشد سریع بوده و مقاومت زیادی در مقابل شرایط و تنش‌های محیطی دارد (Lee و Lee، ۲۰۰۱) و به‌دلیل توان تحمل شرایط نامساعد محیطی در تصفیه فاضلاب از آن استفاده می‌شود. فاضلاب و پساب به‌دلیل وجود مواد مغذی می‌توانند به‌عنوان یک محیط کشت غنی برای کشت این ریزجلبک استفاده گردند (باقری و معصومی‌زاده، ۱۳۹۵). درخصوص قابلیت ریزجلبک‌ها در تصفیه پساب‌ها مطالعات زیادی انجام گرفته است از جمله می‌توان به مطالعه فرهادیان و همکاران (۱۳۹۳) با عنوان تاثیر غلظت‌های مختلف فسفر بر زیست توده و رشد در جلبک سبز *Chlorococum*، افشاری و همکاران (۱۳۹۳) استفاده از پساب ثانویه شهری به‌عنوان محیط کشت جایگزین برای پرورش ریزجلبک *Tetraselmis suecica*، احمدپور و همکاران (۱۳۹۴) حذف فسفات به‌وسیله ریزجلبک‌ها از پساب خروجی فاضلاب شهری در شرایط آزمایشگاهی، ابوالحسنی و همکاران (الف ۱۳۹۵) امکان سنجی تولید زیست‌توده و حذف فسفات و نیترات از پساب شهری به‌وسیله کشت جلبک *Chlorella vulgaris*، ابوالحسنی و همکاران (ب ۱۳۹۵) حذف فسفات و نیترات از پساب شهری به‌وسیله کشت جلبک *Scenedesmus obliquus* و تولید زیست‌توده جلبکی، شریعتی و طاهری (۱۳۹۵) حذف نیتروژن و فسفات از فاضلاب شهری توسط ریزجلبک *C. vulgaris* و تعیین معادله سینتیکی رشد، عباسی‌بیرگانی و همکاران (۱۳۹۶) تصفیه بیولوژیکی فاضلاب خانگی با استفاده از ریزجلبک *C. vulgaris* در مقیاس آزمایشگاهی، نجیمی و همکاران (۱۳۹۵) بررسی اثر ریزجلبک‌های *S. obliquus* و *C. vulgaris* استخراج شده از فاضلاب و تاثیر آن بر روی حذف برخی پارامترهای آلودگی پساب خانگی، باقری و معصومی‌زاده (۱۳۹۵) رشد ریزجلبک *Chlorell* در آب دریا و فاضلاب غیراستریل، De-bashan و همکاران (۲۰۰۲) حذف یون‌های آمونیوم و فسفر از فاضلاب مصنوعی توسط Chlorella، Abe و همکاران (۲۰۰۲) حذف نیترات، نیتریت، آمونیوم و فسفات از آب توسط *Trentepohlia aurea*، Jinsookim و همکاران (۲۰۱۰) حذف آمونیاک از پساب فاضلاب توسط *Chlorella*، Arbib و همکاران (۲۰۱۲) ریزجلبک *Chlorella* برای حذف مواد مغذی (ازت و فسفر) از فاضلاب شهری و کاهش $CO_2$، Ravipratapsingh (۲۰۱۷) کارایی حذف *Chlorella* از پساب شهری برای کاهش یونیزاسیون اشاره کرد. امروزه استفاده از انواع کودهای شیمیایی، داروها و سموم در آبزی پروری بسیار رایج است که می‌تواند تاثیرات نامطلوبی بر محیط‌زیست داشته باشد. لذا تحقیق حاضر با هدف مطالعه قابلیت ریزجلبک کلرلا در جذب نیترات و فسفات موجود در پساب استخرهای پرورش ماهیان گرمابی استان خوزستان انجام پذیرفت.

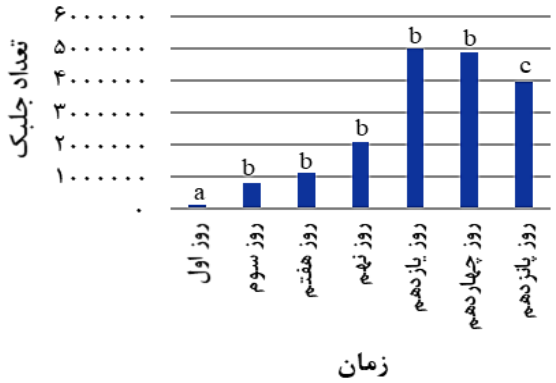
## مواد و روش‌ها

استوک ریزجلبک کلرلا از مرکز تکثیر میگو و ماهیان دریایی شهرستان کلاهی در استان هرمزگان تهیه شد، پس از انتقال به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، در ارلن‌های ۲۰۰۰ میلی‌لیتری حاوی آب مقطر استریل شده (شامل ۱۹۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میلی‌لیتر استوک) پرورش داده شد. محیط کشت مورد استفاده در این تحقیق، محیط TMRL بود (باقری و معصومی‌زاده، ۱۳۹۵). سلول‌های ریزجلبک به‌کمک لام نئوبار و میکروسکوپ دوچشمی مانیتوردار به‌طور روزانه شمارش گردید تا به حداکثر رشد خود (میزان $10^5$) رسیدند، سپس جهت بررسی قابلیت حذف نیترات و فسفات، به پساب اضافه شدند. پساب مورد استفاده در تحقیق حاضر از استخرهای پرورش ماهیان گرمابی استان خوزستان، شهرستان دزفول تهیه گردید.

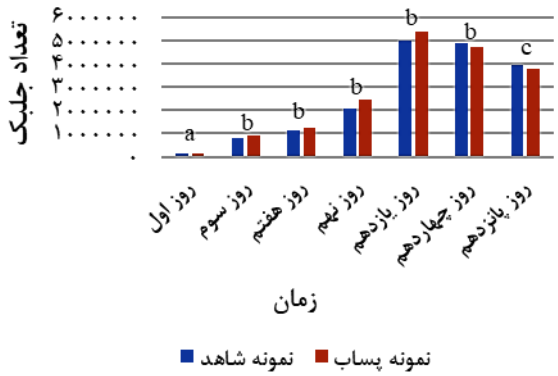
جمع‌آوری پساب پس از مرحله ته‌نشینی انجام گرفت و به‌منظور از بین بردن بار آلودگی میکروبی، به‌کمک دستگاه اتوکلاو مدل Ecotec cs21 با دمای ۱۲۱ درجه‌سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه و در فشار ۱/۵ اتمسفر استریل گردید و بعد از خنک‌شدن و تنظیم شوری، از آن استفاده شد (افشاری و همکاران، ۱۳۹۳). ریزجلبک کلرلا در تیمار پساب با دو تکرار به‌همراه تیمار شاهد (در کل یک تیمار پساب و یک تیمار شاهد) در شرایط یکسان محیطی، دما (۲۷-۲۳ درجه سانتی‌گراد)، روشنایی (۲۵۰۰-۵۰۰) لوکس به‌کمک لامپ فلورسنت با فاصله ۱۵-۱۰ سانتی‌متر به‌صورت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، طی دوره ۱۵ روزه برای بررسی قابلیت حذف ازت و فسفر کشت داده شد، در تمام مدت مطالعه هوادهی توسط پمپ هوا انجام گرفت. هر ۴۸ ساعت یک‌بار میزان شوری، pH، دما، نیتریت، نیترات، فسفات، BOD و COD اندازه‌گیری شد. میزان نیتریت، نیترات و فسفات در ابتدا با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ از توده زنده جلبک جدا شد و سپس توسط روش‌های استاندارد اندازه‌گیری با اضافه کردن معرف‌های مختلف و قرائت میزان جذب نمونه به‌کمک دستگاه اسپکتروفتومتر ماورا بنفش تعیین گردید (APHA، ۱۹۹۵). تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام شد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۵ درصد استفاده شد.

## نتایج

اشکال ۱ و ۲ نتایج مربوط به تعداد ریزجلبک کلرلا در نمونه شاهد و مقایسه آن با تیمار پساب را نشان می‌دهند. نتایج بیانگر وجود تغییرات بین بازه‌های زمانی مختلف در تعداد ریزجلبک کلرلا در نمونه شاهد بود، به‌طوری‌که تعداد ریزجلبک در روزهای سوم تا پانزدهم نسبت به روز اول افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵) ولی از روز چهاردهم کاهش نسبی یافت، تعداد ریزجلبک در روز پانزدهم نسبت به روز یازدهم کاهش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). بالاترین تعداد جلبک در روز یازدهم مشاهده شد. مقایسه آماری بین دو تیمار شاهد و پساب ریزجلبک کلرلا اختلاف معنی‌داری در میزان رشد ریزجلبک مذکور نشان نداد (P>۰/۰۵). نتایج حاصل از آنالیز واریانس حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در میزان حذف BOD در کشت ریزجلبک کلرلا بود (P<۰/۰۵)، به‌طوری‌که میزان BOD اندازه‌گیری شده در روز سوم نسبت به روز اول افزایش معنی‌دار، روز دهم نسبت به روز اول کاهش معنی‌دار و روز پانزدهم نسبت به روز اول افزایش معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵) ولی بین میزان این فاکتور در روز پنجم نسبت به روز اول تغییر معنی‌دار یافت نشد (P>۰/۰۵). تغییرات میزان حذف COD نیز معنی‌دار بود (P<۰/۰۵)، به‌طوری‌که میزان COD اندازه‌گیری شده در روز سوم نسبت به روز اول و روز پنجم نسبت به روز اول افزایش معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵) و بین میزان این فاکتور در روزهای دهم و پانزدهم نسبت به روز اول تغییر معنی‌دار یافت نشد (P>۰/۰۵)، کم‌ترین میزان هر دو فاکتور در روز دهم مشاهده گردید (اشکال ۳ و ۴).

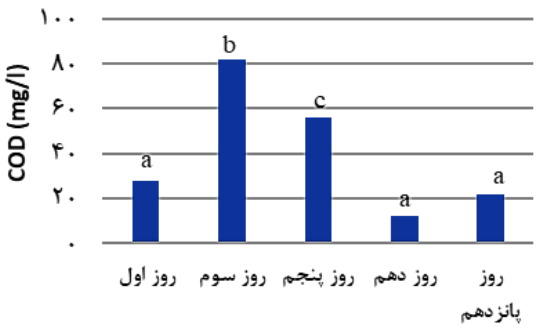



**شکل ۱: تعداد ریزجلبک کلرلا در تیمار شاهد**

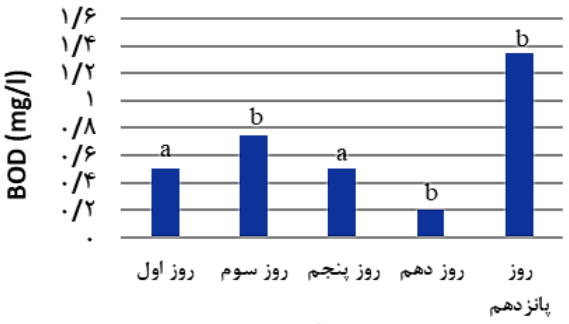



**شکل ۲: مقایسه تعداد ریزجلبک کلرلا در تیمار شاهد و پساب**

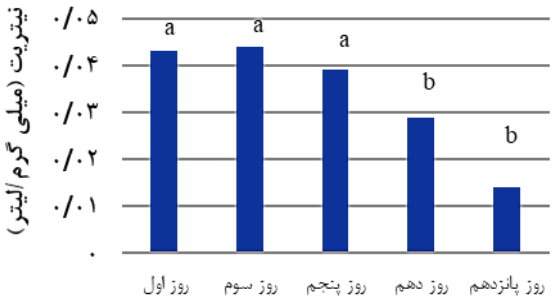
نتایج حاصل از میزان نیتریت باقی‌مانده در کشت ریزجلبک کلرلا تغییرات معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵)، به‌طوری‌که میزان نیتریت در روزهای دهم و پانزدهم نسبت به روز اول کاهش معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). میزان نیترات باقی‌مانده نیز در روزهای سوم و پنجم نسبت به روز اول افزایش معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵) ولی بین میزان نیترات در روزهای دهم و پانزدهم نسبت به روز اول تغییر معنی‌دار یافت نشد (P>۰/۰۵). نیترات باقی‌مانده به‌ترتیب در روز سوم و دهم بیش‌ترین و کم‌ترین میزان را به‌خود اختصاص داد. میزان نیتریت نیز در روز سوم بالاترین و در روز پانزدهم پایین‌ترین مقدار را داشت، میزان فسفات در روزهای سوم، پنجم، دهم و پانزدهم نسبت به روز اول کاهش معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵) ولی بین میزان فسفات در روز پنجم نسبت به روز دهم و پانزدهم تغییرات معنی‌دار دیده نشد (P>۰/۰۵) (اشکال ۵ تا ۷).




شکل ۳: میزان حذف BOD در طول مدت آزمایش

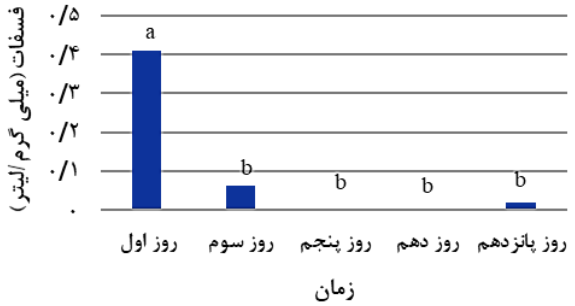



شکل ۴: میزان حذف COD در طول مدت آزمایش




شکل ۵: میزان نیترات باقی‌مانده در پساب

شکل ۶: میزان نیتریت باقی‌مانده در پساب




شکل ۷: میزان فسفات باقی‌مانده در پساب

## بحث

ورودمواد آلاینده به آب‌ها و تجمع آن‌ها در آبزیان به‌علت خطراتی که برای انسان و دیگر موجودات به‌همراه دارد بخش مهمی از آلودگی محیط زیست را شامل می‌شود. کنترل، کاهش بار آلودگی و تصفیه فاضلاب‌ها از دیدگاه سلامت و بهداشت عمومی، پیش‌گیری از نابودی آبزیان و جلوگیری از به‌هم خوردن زنجیره غذایی در اکوسیستم حائز اهمیت است(منزوی، ۱۳۹۲).افزایش جمعیت و مصرف روزافزون منابع منجر به تولید ضایعات و فاضلاب بیش‌تری توسط بشر گردیده است. به‌طوری‌که فاضلاب‌ها و چگونگی دفع آن‌ها از چالش‌های بشر در عصر جدید می‌باشد. فاضلاب‌ها به‌علت مواد تشکیل‌دهنده آن(مدفوع انسانی و حیوانی،شوینده‌ها، ضایعات کشتارگاهی و...) دارای مقادیر بالایی از مواد مغذی هم‌چون نیتروژن و فسفر می‌باشند و رهاسازی آن‌ها در آب‌های طبیعی می‌تواند منجر به یوتروف شدن این آب‌ها گردد. در اکثر مواقع رفع آلودگی از محیط، سخت‌تر و غیر اقتصادی‌تر از حفظ محیط زیست در مقابل آلوده شدن می‌باشد و این خود لزوم استفاده از سیستم‌های تصفیه فاضلاب را گوشزد می‌کند. این مسئله موجب شده تا دانشمندان از طریق روش‌های مختلف بار آلودگی فاضلاب آلوده شده به محیط را کاهش دهند. یکی از موثرترین روش‌ها که در چند سال اخیر مورد توجه قرار گرفته است، استفاده از گیاهان در تصفیه فاضلاب به‌صورت گسترده است (Guieysse و Munoz، ۲۰۰۶) استفاده از جلبک‌ها جهت تصفیه فاضلاب سریع‌ترین و کم هزینه‌ترین روشی است که به‌طور موثر می‌تواند مواد فاسد و خطرناک را به مواد ارزشمند زیستی تبدیل کند (کیانمهر، ۱۳۸۷). جلبک‌ها برای انجام فعالیت‌های متابولیسم خود نیترات و فسفات را مصرف کرده و اکسیژن آزاد می‌کنند، اکسیژن آزاد شده به باکتری‌های هوازی کمک می‌کند تا در تجزیه مواد خام فاضلاب فعال باشند (Monzavi، ۲۰۰۹). تصفیه انواع فاضلاب‌ها به‌کمک میکروجلبک‌ها یک روش دوست‌دار محیط زیست است، زیرا در این فرایند هیچ آلاینده ثانویه‌ای تولید نمی‌شود

و هم‌چنین توده زیستی تولیدی نیز بازیابی شده و مورد استفاده قرار می‌گیرد (Rawat و همکاران، ۲۰۱۱). مواد مغذی مورد نیاز جلبک‌ها به سه دسته عناصر درشت مغذی (نیتروژن، فسفر، کربن)، عناصر ریز مغذی(آهن،روی،مس، منگنز، مولیبدن و غیره) و ویتامین‌ها (ویتامین ب۱۲، تیامین و بیوتین) تقسیم می‌شوند. نیتروژن و فسفر، رشد و تولیدجلبک را در بیش‌تر محیط‌های طبیعی محدود می‌کنند. زمانی که‌نیتروژن‌وفسفردرعملیات آبزی‌پروری افزوده‌شوند،کربن محدودیت پیدا می‌کند. بنابراین با هوادهی مخازن پرورش، محدودیت کربن تا حدودی بر طرف می‌شود. این سه عنصر در رشد جلبک‌ها مهم هستند. نرخ‌های رشد ریزجلبک‌ها به شرایط محیطی از قبیل غلظت‌های ماده مغذی، دسترسی نور، دما و آشفتگی آب وابسته می‌باشد. بسیاری از گونه‌های جلبک‌های سبز در غلظت‌های بالای ماده مغذی ازدیاد پیدا می‌کنند رشد و تولید جلبک‌ها تابع دامنه غلظت نیترات و فسفات در محیط‌های طبیعی و نیز در شرایط پرورش در خشکی است (شکوری و بلوچ، ۱۳۹۵).نتایج حاصل از تحقیق حاضرنشان داد که تعداد جلبک در تیمار شاهد در روزهای سوم تا پانزدهم نسبت به روز اول افزایش معنی‌داری داشته ولی از روز چهاردهم کاهش نسبی یافت، مقایسه آماری بین‌دو تیمار شاهد و پساب جلبک اختلاف معنی‌داری در میزان رشد نشان نداد. باقری و معصومی‌زاده (۱۳۹۵) با تحقیق در مورد بررسی رشد ریزجلبک کلرلا در آب دریای استریل شده و فاضلاب غیراستریل نشان دادند که رشد در کلیه تیمارهای فاضلاب غیراستریل کم‌تر از آب دریای استریل شده بوده است. درضمن رشد ریزجلبک بعد از روز ۱۴ کاهش معنی‌دار نشان داد، علت آن ورود جلبک به فاز کاهش رشد بود که مشابه نتایج تحقیق حاضر می‌باشد، البته تحقیق نام برده‌شده‌در تیمارهای مختلف ویتامینه و محیط کشت‌های مختلف کانوی وTMRL صورت پذیرفت ولی در تحقیق حاضر ریزجلبک کلرلا درمحیط‌کشت TMRL و پساب استریل شده از استخر پرورش ماهیان استان خوزستان بررسی شد. افشاری و همکاران (۱۳۹۳) با تحقیق در مورد‌پساب ثانویه شهری و تعیین بهترین غلظت پساب، جهت رشد ریزجلبک *Tetraselmis Suecica* نشان دادند که میزان رشد برای دو تیمار ۴۰٪ و۶۰٪ پساب ثانویه شهری تصاعدی است و نمی‌توان فاز تاخیری را در نمودار رشد آنان مشاهده نمود، با این‌حال افزایش تعداد جلبک در تیمارهای مختلف محتوی حجم‌های متفاوت پساب (۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد) گزارش شده است. ابوالحسنی و همکاران (الف ۱۳۹۵) با تحقیق روی امکان‌سنجی تولید زیست‌توده و حذف فسفات و نیترات از پساب شهری به‌وسیله کشت ریزجلبک *Chlorella vulgaris* در پساب‌هایی با صفر، ۵۰ و ۱۰۰ درصد رقت، کاهش رشد ریزجلبک را از روز دهم به بعد اعلام نمودند، هم‌چنین ابوالحسنی و همکاران (ب ۱۳۹۵) با تحقیق روی حذف فسفات و نیترات از پساب شهری به‌وسیله کشت ریزجلبک *Scenedesmus obliquus* و تولید زیست‌توده جلبکی در پساب‌هایی با صفر،۵۰ و ۱۰۰ درصدرقت،نتیجه گرفتندکه این‌جلبک بر روی‌کلیه‌تیمارهای آزمایش شده از پساب رشد خوبی داشته است. در مطالعه نجیمی و همکاران (۱۳۹۵) با عنوان بررسی اثر ریزجلبک‌های *S. obliquus* و *C. vulgaris* استخراج شده از فاضلاب و تاثیر آن بر روی حذف برخی پارامترهای آلودگی پساب خانگی افزایش تعدادجلبک و کاهش آلاینده‌های نیترات و فسفات گزارش گردید. فرهادیان و همکاران (۱۳۹۳) با تحقیق روی تاثیر غلظت‌های مختلف فسفر بر زیست‌توده و رشد ریزجلبک سبز *Chlorococum* از استخرهای پرورش ماهی با تیمارهای مختلف و اضافه کردن ۲۵ میلی‌گرم فسفر به محیط کشت BBM به این نتیجه رسیدند که افزایش تراکم ریزجلبک *Chlorococum* در تمام تیمارهای آزمایشی استفاده شده تقریباً یکسان بود و نشان داد که بالاترین تراکم جمعیت جلبک در شرایط آزمایش طراحی شده در روز ۱۲ پرورش است. (حیدری و همکاران (۱۳۹۰) با تحقیق روی تولید زیست‌توده و حذف آمونیاک و نیتریت از پساب کارگاه پرورش ماهی توسط کشت ریزجلبک *S. quadricauda* با تیمارهای مختلف (پساب رقیق‌شده، پساب خام و پساب غلیظ‌شده) با محیط کشت BBM و بازه زمانی ۲۱ روزه به این نتیجه رسیدند که تعداد سلول ریزجلبک از روز ۱۴ به بعد دچار کاهش شد. هم‌چنین Arbib و همکاران (۲۰۱۲) با تحقیق روی ریزجلبک *Chlorella* برای حذف مواد مغذی (ازت و فسفر) از فاضلاب شهری‌و‌کاهش $CO_2$ به این‌نتیجه‌رسیدند که این ریزجلبک در فاضلاب شهری‌کشت‌می‌شودو تولید زیست‌توده می‌کند و قادر به حذف نیترات و فسفات می‌باشد که نتایج کلیه تحقیقات ذکر شده با تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. تلقیح ریزجلبک‌ها به محیط کشت جدید (پساب) توام با بروز تنش برای سلول‌های ریزجلبکی است و معمولاً آن‌ها نیازمند زمان برای آداپتاسیون، رفع تنش، تنظیم فعالیت متابولیکی و سطوح آنزیمی خود هستند (افشاری و همکاران، ۱۳۹۳). شاخص BOD در پساب استخرپرورش ماهی استان‌خوزستان،در روزهای سوم و پانزدهم نسبت به روز اول افزایش معنی‌دار و روز دهم نسبت به روز اول کاهش معنی‌دار نشان‌داد. تغییرات میزان حذف COD نیز معنی‌دار بود، به‌طوری که میزان COD اندازه‌گیری شده در روز سوم نسبت به روز اول و روز پنجم نسبت به روز اول افزایش معنی‌دار نشان داد و بین میزان این فاکتور در روز دهم و پانزدهم نسبت به روز اول تغییر معنی‌دار یافت نشد. در کل شاخص‌های BOD و COD در تحقیق حاضر از روزهای سوم تا دهم روندکاهشی داشت و علت افزایش معنی‌دار آن در روز پانزدهم از بین‌رفتن جلبک‌و‌کاهش‌چشمگیر تعدادآن می‌باشد. عباسی بیرگانی و همکاران(۱۳۹۶) باتحقیق‌درمورد‌تصفیه بیولوژیکی فاضلاب خانگی با استفاده از ریزجلبک *C. vulgaris* در مقیاس آزمایشگاهی

نشان دادند که در شرایط بهینه رشد، ریزجلبک در زمان ۷۲ ساعت قادر به حذف ۸۲٪ از BOD فاضلاب می‌باشد هم‌چنین ایشان اعلام کردند ریزجلبک *C. vulgaris* می‌تواند برای مقاصد مختلفی ازجمله کاهش BODو حذف نیتروژن و فسفر موجود در فاضلاب مورد استفاده قرار گیرد. نجیمی و همکاران (۱۳۹۵) در بررسی اثر ریزجلبک‌های *S. obliquus* و *C. vulgaris* استخراج شده از فاضلاب و تاثیر آن بر روی حذف برخی پارامترهای آلودگی پساب خانگی عنوان نمودند که نمونه‌های تیمار شده با جلبک، BOD را بیش‌تر کاهش می‌دهند که نتایج تحقیقات فوق با تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر در رابطه با فاکتور شیمیایی نیتریت در بازه‌های زمانی تحقیق، کاهش معنی‌داری به دست آمد. حیدری و همکاران (۱۳۹۰) با تحقیق روی تولید زیست‌توده و حذف آمونیاک و نیتریت از پساب کارگاه پرورش ماهی توسط کشت ریزجلبک *S.quadricauda* باتیمارهای مختلف (پساب رقیق‌شده، پساب خام و پساب غلیظ‌شده)، بامحیط کشت BBM و بازه زمانی ۲۱ روزه به این نتیجه رسیدند که این ریزجلبک در پساب رقیق‌شده به‌همراه محیط کشت (L+BMM) بهترین میانگین را برای کاهش آمونیاک و نیتریت پساب دارد. در تحقیق افشاری و همکاران (۱۳۹۳) با عنوان استفاده از پساب ثانویه شهری به‌عنوان محیط کشت جایگزین برای پرورش ریزجلبک *T. suecica*، میزان حذف نیتریت برابر با ۵۶/۳ درصد گزارش شد و در تمامی تیمارها، کم‌ترین مقدار را در سیزدهمین روز نشان داد، در واقع بیش‌ترین حذف در پایان دوره پرورش مشاهده گردید. کم‌ترین میزان نیتریت نیز در روز سیزدهم پرورش و در تراکم بالا مشاهده شد به‌عبارت دیگر بالاترین تراکم جلبکی با پایین‌ترین میزان آلاینده نیتریت ارتباط مستقیم دارد، که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. هم‌چنین Abe و همکاران (۲۰۰۲) با تحقیق روی حذف نیترات، نیتریت، آمونیوم و فسفات از آب توسط ریزجلبک *Trentepohlia aurea* به این نتیجه رسیدند که این ریزجلبک با افزودن نیتریت به‌خوبی رشد می‌کند. Kim و همکاران (۲۰۱۰) با تحقیق روی حذف آمونیاک از پساب توسط ریزجلبک *Chlorella* به این نتیجه رسیدند که این ریزجلبک با افزایش میزان جذب نیتروژن در طی کشت با استفاده از فاضلاب، نیتروژن را از بین می‌برد، درنتیجه مصرف یون‌های بی‌کربنات، کادمیوم و pH محیط کشت افزایش می‌یابد که این می‌تواند یک فرصت برای استفاده از فاضلاب به‌منظور کشت ریزجلبک‌ها برای هدف دوگانه حذف مواد مغذی و تولید سوخت‌های زیستی باز کند. میزان نیترات باقی‌مانده در کشت ریزجلبک کلرلا در روز سوم نسبت به روز اول افزایش معنی‌داری نشان داد که علت آن عدم رشد کافی ریزجلبک و کمبود تعداد آن به‌منظور کاهش نیترات محیط بود ولی با افزایش تعداد جلبک از روز سوم به بعد (همان‌طور که در شکل ۱ مشخص شده است)، میزان نیترات باقی‌مانده در محیط کاهش یافت، البته افزایش نامحسوسی در روز پانزدهم وجود داشت که علت آن کم شدن تعداد ریزجلبک به‌علت شروع فاز مرگ و میر آن‌ها بود. همین روند در مورد میزان فسفات باقی‌مانده در محیط از روز سوم به بعد دیده شد و میزان فسفات در روزهای سوم، پنجم، دهم و پانزدهم نسبت به روز اول کاهش معنی‌دار نشان داد. شریعتی و طاهری (۱۳۹۵) با تحقیق روی حذف نیتروژن و فسفات از فاضلاب شهری توسط ریزجلبک *C. vulgaris* و معادله سنتیکی رشد آن نتیجه گرفتند که روند کاهش نیترات در دو روز اول بیش‌تر از روزهای بعد بود. ایشان هم‌چنین اعلام کردند نتایج کاهش فسفات از الگوی مشابه نیترات تبعیت می‌کند، اگرچه میزان کاهش آن کم‌تر از نیترات است، در فاضلاب‌های شهری مقدار فسفات معمولاً کم‌تر از منابع نیتروژن است و از طرفی جلبک‌ها به نیتروژن بیش‌تر از فسفات نیاز دارند. ابوالحسنی و همکاران (ب ۱۳۹۵) با تحقیق روی حذف فسفات و نیترات از پساب شهری به‌وسیله کشت جلبک *S. obliquus* و تولید زیست توده جلبکی نتیجه گرفتند که این جلبک باعث کاهش میزان نیترات و فسفات در پساب شد. در تحقیق افشاری و همکاران (۱۳۹۳) با عنوان استفاده از پساب ثانویه شهری به‌عنوان محیط کشت جایگزین برای پرورش ریزجلبک *T. suecica*، میزان حذف نیترات از پساب برابر با ۸۰ درصد در روز دهم گزارش شد. میزان نیترات در تمامی تیمارها به‌جز تیمار شاهد، از روز اول تا روز دهم کاهش یافت ولی از روز دهم تا سیزدهم، افزایش میزان نیترات مشاهده گردید. کم‌ترین میزان نیترات پساب در روز دهم و در تیمار با تراکم بالا مشاهده شد. میزان حذف فسفات نیز برابر با ۷۱/۸ درصد گزارش شد. میزان فسفات در کلیه تیمارها از روز اول تا چهارم دوره پرورش افزایشی ناگهانی نشان داد، سپس میزان آن در همه تیمارها تا روز دهم کاهش یافت. اگرچه پس از آن میزان فسفات در تراکم‌های پایین و متوسط افزایش پیدا نمود، اما کاهش در تیمار با تراکم بالا تا آخرین روز پرورش ادامه داشت. هم‌چنین ریزجلبک تتراسلمیس به‌منظور رشد خود از مواد مغذی پساب استفاده می‌کند و با جذب این مواد، سبب کاهش غلظت آن‌ها در پساب می‌گردد. سلول‌های فیتوپلانکتونی ابتدا نیترات را جذب می‌کنند و سپس درصورت عدم وجود نیترات کافی، نیتریت را به نیترات تبدیل کرده و از آن استفاده می‌کنند زیرا ابتدا کاهش در غلظت نیترات اتفاق افتاده است (افشاری و همکاران، ۱۳۹۳). نجیمی و همکاران (۱۳۹۵) نیز در بررسی اثر ریزجلبک‌های *S. obliquus* و *C. vulgaris* استخراج شده از فاضلاب و تاثیر آن بر روی حذف برخی پارامترهای آلودگی پساب خانگی بر تاثیر ریزجلبک کلرلا در کاهش میزان نیترات و فسفات پساب تاکید نمودند. هم‌چنین ابوالحسنی و همکاران (الف ۱۳۹۵) با تحقیق روی امکان‌سنجی تولید زیست‌توده و حذف فسفات و نیترات از پساب شهری به‌وسیله کشت جلبک

*C. vulgaris* اعلام کردند که این جلبک قادر است در انتهای دوره (روز پانزدهم) میزان فسفات و نیترات پساب را کاهش دهد این نتایج در راستای نتایج تحقیق حاضر می‌باشد. فرهادیان و همکاران (۱۳۹۳) با تحقیق روی تاثیر غلظت‌های مختلف فسفر بر زیست‌توده و رشد جلبک سبز *Chlorococum* از استخرهای پرورش ماهی با تیمارهای مختلف و اضافه کردن ۲۵ میلی‌گرم فسفر به محیط کشت BBM به این نتیجه رسیدند که افزایش تراکم جلبک در تمام تیمارهای آزمایشی تقریباً یکسان بود و بالاترین تراکم جمعیت جلبک در روز دوازدهم دوره پرورش، هم‌زمان با کاهش میزان فسفر پساب در این روز بود. این نتایج با گزارش شریعتی و طاهری (۱۳۹۵) با تحقیق روی حذف نیتروژن و فسفات از فاضلاب شهری توسط ریزجلبک *C. vulgaris* و معادله سنتیکی رشد آن نیز مطابقت دارد. ایشان اعلام کردند نتایج کاهش فسفات از الگوی مشابه نیترات تبعیت می‌کند، اگرچه میزان کاهش آن کم‌تر از نیترات است، در فاضلاب‌های شهری مقدار فسفات معمولاً کم‌تر از منابع نیتروژن است و از طرفی نیاز جلبک‌ها به نیتروژن بیش‌تر از فسفات است. De-bashan و همکاران (۲۰۰۲) با تحقیق روی حذف یون‌های آمونیوم و فسفر از فاضلاب مصنوعی توسط *Chlorella* به این نتیجه رسیدند که این ریزجلبک پتانسیل درمان فاضلاب حاوی آمونیوم و فسفر به‌عنوان آلاینده اصلی را دارا می‌باشد. Ravipratap (۲۰۱۷) با تحقیق روی کارایی *Chlorella* جهت حذف آلاینده‌های پساب شهری به این نتیجه رسیدند که ریزجلبک‌ها در حذف فسفات و نیتروژن از فاضلاب شهری، غنی از مواد مغذی بسیار متمرکز هستند. کاهش یا حذف مواد مغذی محیط کشت توسط ریزجلبک‌ها با تراکم سلولی آن‌ها رابطه دارد. جذب نیتروژن توسط ریزجلبک همراه با افزایش محتوای پروتئین سلولی آن می‌باشد (افشاری و همکاران، ۱۳۹۳). به‌طور کلی در تحقیق حاضر ریزجلبک کلرلا با جذب نیترات، نیتریت، فسفات و هم‌چنین کاهش میزان BOD و COD نشان داد که می‌تواند به‌عنوان یک جاذب موثر برای حذف آلاینده‌ها در پساب استخر پرورش ماهیان گرمابی استان خوزستان استفاده شود. به‌نظر می‌رسد که این ریزجلبک قادر به تولید زیست‌توده جلبکی در سیستم‌های پالایش پساب خروجی استخرهای پرورش ماهی، قبل از ورود به محیط طبیعی مورد استفاده قرار گیرد، یعنی می‌توان جهت پرورش ریزجلبک کلرلا از پساب این استخرها به‌عنوان محیط کشت جایگزین استفاده نمود.

## منابع


۱. **ابوالحسنی، م.ه.؛ حسینی، س.ع.؛ قربانی، ر. و وینسه، ا.، ۱۳۹۵ الف**. امکان‌سنجی تولید زیست‌توده و حذف فسفات و نیترات از پساب شهری به‌وسیله کشت جلبک کلرلا وولگاریس *Chlorella vulgaris*. نشریه توسعه آبزی‌پروری. سال ۱۰، شماره ۲، صفحات ۱ تا ۸.

۲. **ابوالحسنی، م.ه.؛ حسینی، س.ع.؛ قربانی، ر. و وینسه، ا.، ۱۳۹۵ ب**. حذف فسفات و نیترات از پساب شهری به‌وسیله کشت جلبک *Scenedesmus obliquus* و تولید زیست‌توده جلبکی. مجله بوم شناسی آبزیان. سال ۵، شماره ۴، صفحات ۳۳ تا ۳۹.

۳. **احمدپور، ن.؛ صیادی، م.ح.؛ فلاحی‌کپورچالی، م. و رضایی، م.، ۱۳۹۴**. حذف فسفات به‌وسیله ریزجلبک‌ها از پساب خروجی فاضلاب شهری در شرایط آزمایشگاهی. زیست‌فناوری دانشگاه تربیت مدرس. سال ۶، شماره ۲، صفحات ۴۹ تا ۵۴.

۴. **آخوندیان، م. و میرحسن‌نیا، س.د.، ۱۳۹۶**. تنوع زیستی ریز جلبک‌ها، ظرفیتی بالقوه در فناوری‌های زیستی و محیطی. فصلنامه انسان و محیط زیست. سال ۱۹، شماره ۴۱، صفحات ۳۹ تا ۷۰.

۵. **افشاری، ع.؛ یحیوی، م. و سجادی، م.م.، ۱۳۹۳**. استفاده از پساب ثانویه شهری به‌عنوان محیط کشت جایگزین برای پرورش ریز جلبک *Tetraselmis suecica*. نشریه اقیانوس‌شناسی. سال ۵، شماره ۱۸، صفحات ۷۹ تا ۸۵.

۶. **باقری، ش. و معصومی‌زاده، س.ز.، ۱۳۹۵**. بررسی رشد میکروجلبک *Chlorella* sp در آب دریا و فاضلاب غیراستریل. مجله علمی شیلات ایران. سال ۲۶، شماره ۲، صفحات ۱۵۳ تا ۱۶۳.

۷. **حیدری، ص.؛ فرهادیان، ا. و محبوبی‌صوفیانی، ن.، ۱۳۹۰**. تولید زیست توده و حذف آمونیاک و نیترات از پساب کارگاه پرورش ماهی به‌وسیله کشت جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda*. محیط شناسی. سال ۳۷، شماره ۵۹، صفحات ۱۵ تا ۲۸.

۸. **شریعتی، م. و طاهری، ر.، ۱۳۹۵**. حذف نیتروژن و فسفات از فاضلاب شهری توسط ریزجلبک *Chlorella vulgaris* و تعیین معادله سینتیکی رشد آن. مجله زیست‌شناسی کاربردی دانشگاه الزهرا. سال ۲۹، شماره ۲، صفحات ۱۱۷ تا ۱۳۰.

۹. **شکوری، الف.، و بلوچ، گ.، ۱۳۹۵**. تاثیر غلظت‌های مختلف نیترات و فسفات بر رشد جلبک سبز *Ulva rigida* در تانک‌های ۴۰ لیتری در فضای باز. مجله اقیانوس شناسی. سال ۷. شماره ۲۸. صفحات ۳۶-۲۹.

۱۰. **عباسی بیرگانی، م.؛ علیزاده، ر.؛ طهماسبی انفرادی، س. و سلطانیان، س.، ۱۳۹۶**. تصفیه بیولوژیکی فاضلاب خانگی با استفاده از میکروجلبک *Chlorella vulgaris* در مقیاس آزمایشگاهی. مجله محیط‌زیست و مهندسی آب. سال ۳، شماره ۲، صفحات ۱۴۴ تا ۱۵۶.

۱۱. **کیانمهر، ه.، ۱۳۸۷**. بیولوژی جلبک‌ها. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۳۳۶ صفحه.

۱۲. **فرهادیان، ا.؛ فلاحی، س.م. و محبوبی‌صوفیانی، ن.، ۱۳۹۳**. تاثیر غلظت‌های مختلف فسفر بر زیست‌توده و رشد جلبک سبز *Chlorococum*. مجله زیست‌شناسی ایران. سال ۲۷، شماره ۳، صفحات ۴۷۸ تا ۴۸۹.

۱۳. **منزوی، م. ت.، ۱۳۹۲**. فاضلاب شهری- تصفیه فاضلاب. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۶۶ صفحه.

۱۴. **نجیمی،ز.؛سلیمی،ل.وربانی،م.**، ۱۳۹۵.بررسی‌اثر ریزجلبک‌های *Scenedesmus obliquus* و *Chlorella vulgaris* استخراج شده از فاضلاب و تاثیر آن بر روی حذف برخی پارامترهای آلودگی پساب خانگی. اولین کنفرانس بین‌المللی آب. محیط زیست و توسعه پایدار. ۱۴ صفحه.

۱۵. **Abe, K.; Imamaki, A. and Morio., H., 2002.** Removal of nitrate, nitrite, ammonium and phosphate ions from water by the aerial microalga *Trentepohlia aurea*. Journal of applied phycology. Vol. 14, No. 2, pp: 129-134.

۱۶. **APHA. 1995.** Standard methods for the examination of water and wastewater 19th edition. American Public Health Association. pp: 83-113.

۱۷. **Arbib, Z.; Ruiz, J.; Alvarez, P.; Garrido, C.; Barragan, J. and Perales, J.A., 2012.** Chlorella stigmatophora for urban wastewater nutrient removal and CO2 abatement. International Journal of Phytoremediation. Vol. 14, No. 7, pp: 714-725.

۱۸. **De-bashan, L.E.; Moreno, M.; Hernandez, J.P. and Bashan, Y., 2002**. Removal of ammonium and phosphorus ions from synthetic wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* coimmobilized in alginate beads with the microalgae growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. Journal of Water Research. Vol. 36, No. 12, pp: 2941-2948.

۱۹. **kim, J.; Lingaraju, B.; Rheaume, R.; Lee, J. and Siddiqui, K., 2010**. Removal of Ammonia from Wastewater Effluent by *Chlorella Vulgaris*. Tsinghua science and Thechnolgy. Vol. 14, No. 4, pp: 391-396.

۲۰. **Lee, K. and Lee, C.G., 2001**. Effect of light/dark cycles on wastewater treatments by microalgae. Biotechnology and Bioprocess Engineering. Vol. 6, pp: 194-199.

۲۱. **Martinez, M.E.; Sanchez, S.; Jimenez, J.M.; Yoysfi, F.E. and Munoz, L., 2000**. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. Bioresource Technology. Vol. 73, pp: 263-272.

۲۲. **Munoz, P. and Guieysse, B., 2006**. Algalbacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review. Water research. Vol. 40, pp: 2799-2815.

۲۳. **Ravipratap, S.; Rohan, B. and Sibi, G., 2017**. Nurennt Removal Efficiencies of *Chlorella vulgaris* from urban Wastewater for Reduced Eutrophication .Journal of Environmental Protection. Vol. 8, No. 1, pp: 1-11.

۲۴. **Rawat, I.; Kumar, R.R.; Mutanda, T. and Bux, F., 2011.** Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. Appl. Energy. Vol. 88, No. 10, pp: 3411-3424.

۲۵. **Tam, N.F.Y. and Wong, Y.S., 1996**. Effect of ammonia concentrations on growth of *Chlorella vulgaris* and nitrogen removal from media. Bioresource Technology. Vol. 57, pp: 59-66.