

# بررسی میزان رشد فیتوپلانکتون *Chlorella vulgaris* و اثرات آن بر روی

## مواد مغذی پساب شهری

سیده اطهره موسوی<sup>(۱)\*</sup>، مازیار یحیوی<sup>(۲)</sup>، محمدرضا طاهری زاده<sup>(۳)</sup>

۱-دانش آموخته دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس. صندوق پستی: ۷۹۱۵۹/۱۳۱۱

۲-استادیار گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس، صندوق پستی: ۷۹۱۵۹/۱۳۱۱

۳-پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، صندوق پستی: ۷۹۱۴۵\_۱۵۹۷

Athareh\_m@yahoo.com

### چکیده

فیتوپلانکتون ها اساس تمام زنجیره های غذایی آبی هستند. کاربرد اصلی آنها در آبی پروری مربوط به تغذیه می باشد اما در عین حال قادر به جذب مواد مغذی پساب و استفاده از آنها در جهت رشد خود می باشند. بدین منظور پرورش فیتوپلانکتون *Chlorella vulgaris* با استفاده از محیط کشت پساب شهری در تابستان ۱۳۸۷ در تصفیه خانه فاضلاب بندرعباس مورد آزمایش قرار گرفت تا علاوه بر کاهش هزینه تولید، توانایی جذب مواد مغذی پساب و اثر تصفیه کنندگی آن سنجیده و مورد بهره برداری قرار گیرد. *Chlorella vulgaris* با تراکم یکسان در حجم های متفاوت پساب شهری (۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد) به منظور بررسی میزان رشد و با سه تراکم اولیه متفاوت (تراکم بالا  $2 \times 10^6$  سلول در میلی لیتر، متوسط  $1 \times 10^6$  سلول در میلی لیتر و پایین  $5 \times 10^5$  سلول در میلی لیتر) به پساب تصفیه شده اضافه گردیدند. تعداد سلول در چهارده روز افزایش یافت و سرعت این افزایش در کشت های ۸۰ و ۱۰۰ درصد بیشتر بود. در پایان روز چهاردهم پرورش بیش از ۸۰ درصد نیترات، ۵۶ درصد نیتريت و ۸۰ درصد فسفات در همه کشت ها به جزء تراکم پایین حذف گردید. نتایج نشان داد که کارایی حذف مواد مغذی پساب به وسیله این سیستم فیتوپلانکتونی ارتباط مستقیم با فعالیت فیزیولوژیک و رشد سلول های *Chlorella* که تحت تأثیر تراکم اولیه بودند، داشت. به نظر می رسد که کشت های با یک تراکم فیتوپلانکتونی بالا، برای رسیدن به نتایج رضایت بخش از حذف مواد مغذی در مدت ۱۰ روز به جای ۱۴ روز سودمندتر بود.

**کلمات کلیدی:** *Chlorella vulgaris* - تراکم سلولی - حذف مواد مغذی - پساب شهری

\*نویسنده مسئول

فیتوپلانکتون ها بعنوان یک منبع غذایی غیر قابل اجتناب در پرورش تجاری گونه های مختلف آبزیان جانوری و مراحل لاروی برخی از گونه های سخت پوستان و ماهیان مطرح می باشند. همچنین فیتوپلانکتون ها در تولید انبوه زئوپلانکتون ها مانند روتیفر، کوبه پودا و آرتمیا نقش دارند که زئوپلانکتون ها نیز خود به عنوان منابع غذایی در رشد مراحل لاروی و جوانی سخت پوستان و ماهیان از جمله در تکنیک پرورش آب سبز لارو ماهیان دریایی دارای اهمیت و کاربرد می باشند (۱۳). علاوه بر این مواد استخراج شده از این ارگانسیم های نورپسند کاربردهای فراوانی در صنایع غذایی حیوانی، انسانی، بهداشتی و آرایشی دارد (۱۹). در سال ۱۹۹۷ تولید گونه های عمده ای از آبزیان که از فیتوپلانکتون ها تغذیه می کنند، دست کم به  $7 \times 10^6$  تن، یعنی ۱۸ درصد از کل تولیدات آبی پروری جهان رسید (۲۰). اما آنچه که قابل توجه است هزینه های تولید فیتوپلانکتون ها برای بخش های آبی پروری همچون صنعت پرورش میگو و صدف های دوکفه ای، پرورش کپور ماهیان و سخت پوستان می باشد، بنابراین کاهش بهای تولید فیتوپلانکتون ها برای پرورش دهندگان اهمیت می یابد (۶). بدین منظور پرورش گونه های فیتوپلانکتون ها با استفاده از محیط کشت پساب شهری مورد آزمایش قرار گرفته است تا علاوه بر کاهش هزینه تولید غذای آبزیان، توانایی جذب مواد مغذی پساب و یا اثر تصفیه کنندگی گونه های مختلف فیتوپلانکتون ها را نیز سنجیده و مورد بهره برداری قرار دهند. بدین روش علاوه بر امکان معرفی و تولید انبوه فیتوپلانکتون ها در سیستم های نیمه متراکم، می توان نسبت به تولید انبوه آنها برای تولید روغن های غیر اشباع، آگار، سوخت زیستی و ...، در کنار اثر تصفیه کنندگی آنها اقدام نمود (۹).

فاضلاب هایی که به طور عمده از ضایعات صنعتی و شهری ایجاد شده باشند دارای بسیاری از ترکیبات آلی و معدنی هستند که به صورت محلول و معلق درآمده است. تصفیه چنین فاضلاب هایی غالباً یک امر اکسیژناسیون تلقی می شود، لذا پدیده اکسیژنه نمودن به وسیله فیتوپلانکتون ها بسیار متداول است (۱).

*Chlorella vulgaris* گونه معمول و مؤثری برای حذف مواد مغذی است زیرا این فیتوپلانکتون قابلیت رشد هتروتروفی بر روی مواد مغذی پساب را دارد و با استفاده این مواد جهت رشد خود می تواند موجب حذف نیتروژن و فسفر پساب گردد، از طرفی دامنه وسیعی از درجه حرارت و pH را تحمل می کند و برای پالایش فاضلاب مناسب می باشد. این نشان می دهد که سیستم پرورش فیتوپلانکتون ها می تواند به عنوان جایگزین فرآیند تصفیه ثانویه برای حذف مواد مغذی از پساب ها به کار گرفته شود (۲۳).

برتری استفاده از فیتوپلانکتون ها برای این هدف عبارتند از : ۱- هزینه بسیار کم عملیات، ۲- کاربری بسیار بالای فیتوپلانکتون ها در آبی پروری و شیلات، ۳- امکان جذب نیتروژن و فسفر در بیوماس فیتوپلانکتون ها به عنوان کود جهت متوقف کردن مشکل جابه جایی لجن (۴). رشد فیتوپلانکتون ها و حذف مواد مغذی از پساب نه تنها تحت تأثیر مواد مغذی قابل دسترس قرار دارد بلکه همچنین وابسته به فعل و انفعالات پیچیده میان فاکتورهای فیزیکی مثل pH، شدت نور، درجه حرارت و برخی فاکتورهای زیستی می باشد که مهم ترین آن تراکم اولیه فیتوپلانکتون ها بوده (۱۰) و قابل انتظار است که افزایش تراکم در کوتاه تر کردن زمان و کارایی پالایش، موثر باشد. از این رو در این تحقیق میزان رشد فیتوپلانکتون *Chlorella vulgaris* در پساب شهری و اثر تراکم های متفاوت آن بر روی حذف ازت و فسفر پساب، مورد آزمایش قرار گرفته است.

## ۲- مواد و روش کار

در این تحقیق از پساب شهری تصفیه خانه فاضلاب بندرعباس به عنوان محیط کشت و از فیتوپلانکتون *Chlorella vulgaris* از مجموعه فیتوپلانکتون های پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان استفاده گردید. تمامی آزمایشات در آزمایشگاه تصفیه خانه فاضلاب بندرعباس در تابستان ۱۳۸۷ انجام گرفت. پساب ها از مرحله ته نشینی اولیه پس از عبور از صافی و حذف ذرات درشت تر توسط آشغال گیر مکانیکی از یک تصفیه خانه فاضلاب جمع آوری گردید و برای از بین بردن هر گونه آلودگی میکروبی و باکتریایی و همچنین اطمینان از عدم وجود هر گونه میکروارگانیسمی به غیر از فیتوپلانکتون مورد نظر، در اتوکلاو با دمای  $121^{\circ}\text{C}$  و فشار  $1/5$  اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. ترکیب شیمیایی پساب خام با توجه به مواد مغذی محلول مورد نیاز برای رشد فیتوپلانکتون ها مانند نیتريت ( $\text{NO}_2$ )، نترات ( $\text{NO}_3$ ) و فسفات ( $\text{PO}_4$ ) بررسی گردید.

در این مرحله ۱۰ تیمار آماده گردید که ۶ تیمار آن مربوط به مقادیر متفاوت پساب شهری با تراکم یکسان فیتوپلانکتونی ( $1 \times 10^6$  سلول در میلی لیتر) و ۴ تیمار مربوط به تراکم های متفاوت فیتوپلانکتونی با حجم پساب یکسان (۲۵۰ میلی لیتر) بوده است که شامل:

تیمار ۱: محیط کشت f/۲ در آب دریای استریل شده به عنوان شاهد

تیمار ۲: ۲۰ درصد پساب و ۸۰ درصد آب دریای استریل شده

تیمار ۳: ۴۰ درصد پساب و ۶۰ درصد آب دریا

تیمار ۴: ۶۰ درصد پساب و ۴۰ درصد آب دریا

تیمار ۵: ۸۰ درصد پساب و ۲۰ درصد آب دریا

تیمار ۶: ۱۰۰ درصد پساب شهری

تیمار A- پساب خالص بدون تراکم فیتوپلانکتون به عنوان شاهد

تیمار B- پساب محتوی  $5 \times 10^5$  سلول در میلی لیتر (تراکم پایین)

تیمار C- پساب محتوی  $1 \times 10^6$  سلول در میلی لیتر (تراکم متوسط)

تیمار D- پساب محتوی  $2 \times 10^6$  سلول در میلی لیتر (تراکم بالا)

تراکم های فوق با استفاده از لام هموسیتمتر شمارش شده و به محیط های کشت در ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی لیتری اضافه گردید (۱۱). تمامی تیمارها و تکرارها تحت شرایط یکسان دمایی (۲۵-۲۲ درجه سانتی گراد) و روشنایی ۵۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس توسط لامپ های فلورسنت سفید و به صورت روشنایی ۲۴ ساعته در طی یک دوره ۱۴ روزه کشت داده شدند (۱۵). جهت جلوگیری از رسوب گذاری و شناوری فیتوپلانکتون ها و همچنین ایجاد سطح تماس بیشتر فیتوپلانکتون ها با پساب، هوادهی در تمام طول دوره و برای همه تیمارها به طور یکسان و مداوم برقرار بود. همه تیمارها دارای ۳ تکرار بودند.

در فواصل زمانی ۳ روزه از هر تیمار ۴۵ میلی لیتر نمونه جمع آوری شد و تراکم سلولی توسط استفاده از لام هموسیتمتر در زیر میکروسکوپ و به صورت تعداد در هر میلی لیتر تعیین گردید. سپس نمونه ها در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند (۱۱). غلظت فسفات، نترات و نیتريت توسط روش های استاندارد اندازه گیری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ماوراء بنفش اندازه گیری گردید (۳). pH آب نیز توسط دستگاه pH متر قابل حمل اندازه گیری و ثبت گردید. همه نمونه گیری ها در دوره نوری و زمان مشابهی از روز انجام شدند.

نرخ رشد *Chlorella vulgaris* در روز با استفاده از فرمول Tam & Wong (۱۹۶۶) محاسبه گردید:

$$\text{نرخ رشد} \left( \frac{1}{\text{روز}} \right) = \ln \frac{Nt}{N0}$$

که  $Nt$  و  $N0$  به ترتیب تعداد سلول در آخر و در ابتدای آزمایش است.

درصد حذف غلظت ازت و فسفر پساب با استفاده از فرمول (Lau, et al (۱۹۹۸) محاسبه گردید:

$$\text{درصد حذف ماده مغذی} = 100 - \left( \frac{\text{غلظت ماده مغذی در زمان } t}{\text{غلظت ماده مغذی در ابتدای کار}} \times 100 \right)$$

که در این فرمول  $t$  روز آزمایش می باشد.

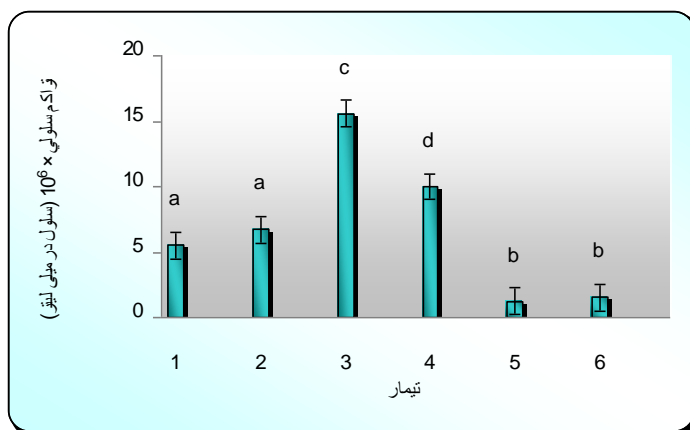
پس از انجام محاسبات، داده های به دست آمده با استفاده از کامپیوتر و نرم افزار Excel اقدام به رسم شکل ها نموده و جهت فهمیدن تفاوت معنی دار بین تیمارها در سطح خطای ۵ درصد ( $P < 0.05$ ) از آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و جهت مقایسه تیماره، توسط تست توکی<sup>1</sup> از نرم افزار SPSS استفاده گردید.

---

1- tukey

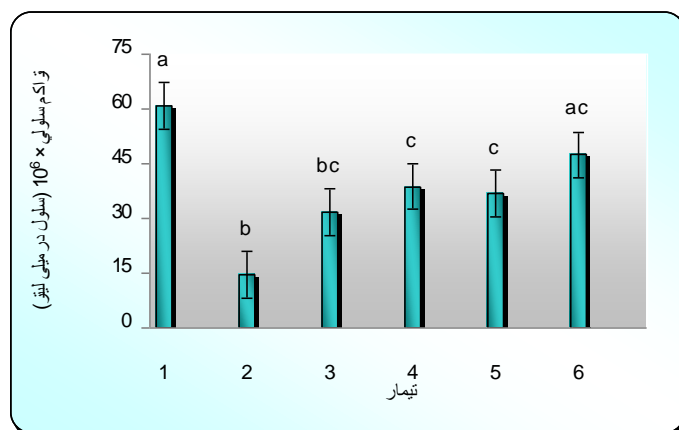
۳-۱- رشد فیتوپلانکتون

با افزایش حجم پساب رشد سلول ها نیز افزایش یافت. شمارش سلول های فیتوپلانکتونی در بین تیمارهای مختلف در روز چهارم نشان داد که بیشترین تعداد با  $10^6 \times 15/6$  سلول در میلی لیتر مربوط به تیمار ۳ و کمترین آن با  $10^6 \times 1/25$  سلول در میلی لیتر مربوط به تیمار ۵ بوده است (شکل ۱). نتایج آنالیز واریانس یکطرفه نشان داد که بین اثرات زمان (روز پرورش) و میزان رشد سلولی در تیمارهای متفاوت اختلاف معنی داری وجود دارد ( $P < 0/05$ ).



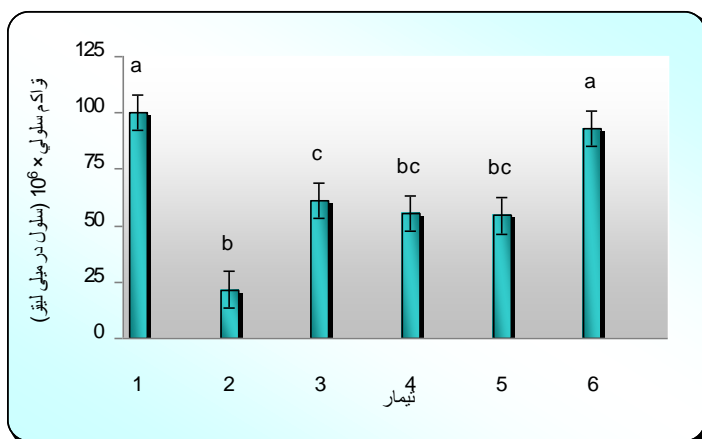
شکل ۱- تعداد سلول های فیتوپلانکتونی در تیمارها در روز چهارم (حروف غیر مشابه نشان دهنده معنی دار بودن اختلاف میانگین ها می باشند).

رشد سلول های فیتوپلانکتونی در هفتمین روز در تیمارها نشان داد که بیشترین تعداد در تیمار ۱ ( $10^6 \times 60/91$  سلول در میلی لیتر) و پس از آن تیمار ۶ ( $10^6 \times 47/42$  سلول در میلی لیتر) و کمترین تعداد در تیمار ۲ ( $10^6 \times 14/61$  سلول در میلی لیتر) ثبت گردید (شکل ۲).



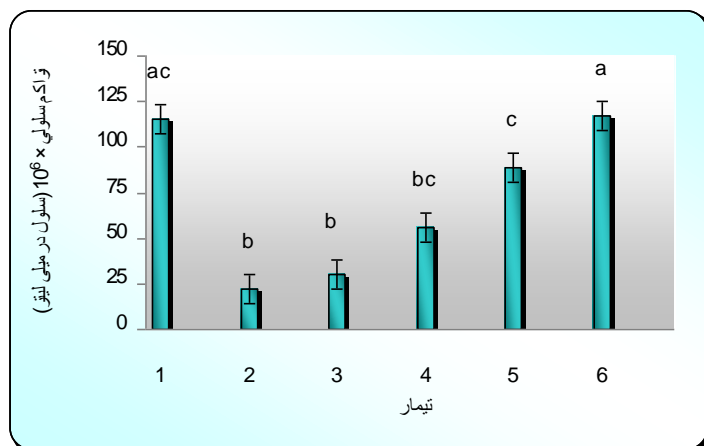
شکل ۲- تعداد سلول های فیتوپلانکتونی در تیمارها در روز هفتم

نتایج حاصل در روز دهم در بین تیمارها حداکثر با  $10^6 \times 100$  سلول در میلی لیتر مربوط به تیمار ۱ و حداقل با  $10^6 \times 21/6$  سلول در میلی لیتر مربوط به تیمار ۲ بوده است (شکل ۳).



شکل ۳- تعداد سلول های فیتوپلانکتونی در تیمارها در روز دهم

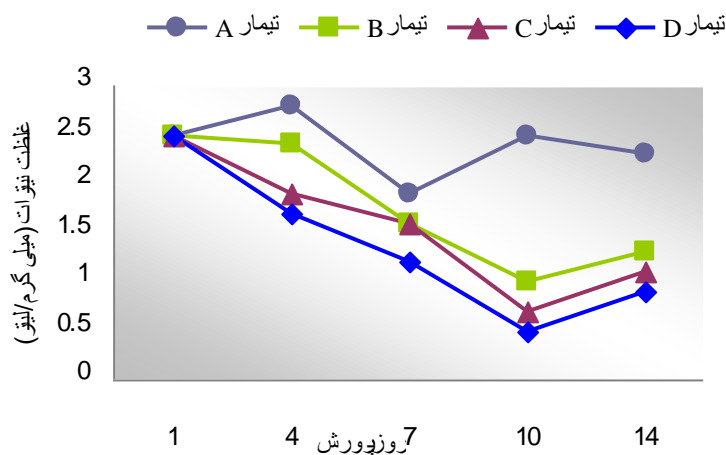
در روز چهاردهم بیشترین میزان تراکم سلولی مربوط به تیمار ۶ با  $10^6 \times 117$  سلول در میلی لیتر و کمترین میزان تراکم سلولی مربوط به تیمار ۲ با  $10^6 \times 22$  سلول در میلی لیتر بود (شکل ۴).



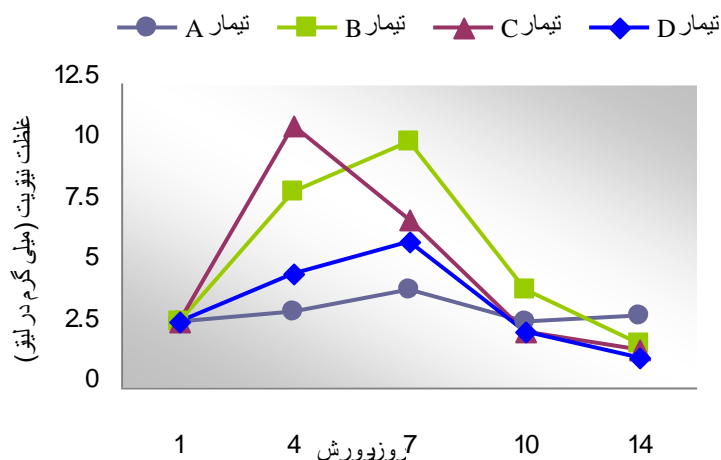
شکل ۴- تعداد سلول های فیتوپلانکتونی در تیمارها در روز چهاردهم

### ۳-۲- حذف نیتروژن

کاهش در مقدار غلظت نیتريت و نترات پساب در تیمارهای **B** و **C** و **D** خیلی بیشتر از تیمارهای بدون فیتوپلانکتون مشاهده گردید. در تراکم های پایین تر، میزان حذف نیتروژن کاهش یافته و همچنین زمان طولانی تری برای دست یافتن به درصد حذف مشابه، مورد نیاز بود. غلظت باقیمانده نترات در تیمارهای فیتوپلانکتونی کاهش زیادی را در روز دهم نشان داد به طوری که در تیمار **B** به ۱ میلی گرم بر لیتر، در تیمار **C** به ۰/۷ میلی گرم بر لیتر و در تیمار **D** به ۰/۵ میلی گرم بر لیتر رسید (شکل ۵)، در صورتی که میزان نیتريت در روزهای اول افزایش یافته ولی پس از آن کاهش در غلظت آن تا روز آخر پرورش ادامه داشت و در روز چهاردهم در تیمار **B** به ۳/۱ میلی گرم بر لیتر، در تیمار **C** به ۳/۹ میلی گرم بر لیتر و در تیمار **D** به ۳/۸ میلی گرم بر لیتر رسید (شکل ۶).



شکل ۵- غلظت باقیمانده نترات (NO<sub>3</sub>) پساب در طول آزمایش



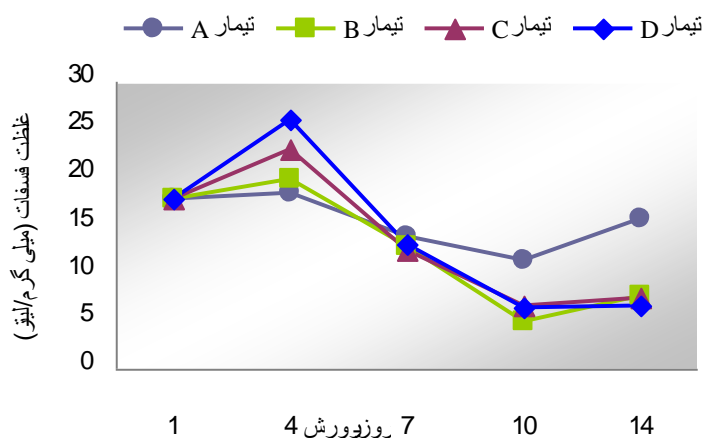
شکل ۶- غلظت باقیمانده نیتريت (NO<sub>2</sub>) پساب در طول آزمایش



نتایج آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) در مورد غلظت نیترات نشان داد که تنها بین تیمار A با تیمارهای B، C و D اختلاف معنی داری وجود دارد ( $P < 0/05$ ). در مورد غلظت نیتريت نیز مشاهده گردید که تنها بین تیمار A و تیمار C اختلاف معنی داری وجود دارد ( $P < 0/05$ ), و در بین سایر تیمارها هیچ اختلاف معنی داری وجود ندارد ( $P > 0/05$ ). درصد کاهش در غلظت نیترات در تیمار D به ۸۰ درصد و در تیمار A به حدود ۱۰ درصد رسید، حذف نیتريت نیز تا حدود ۵۵ درصد در تیمار D مشاهده گردید.

### ۳-۳- حذف فسفات

غلظت فسفات پساب تا روز چهارم آزمایش افزایش پیدا کرد، اما پس از آن در همه تیمارها شروع به کاهش نمود (شکل ۷). در پایان روز دهم آزمایش باقیمانده غلظت فسفات در تیمار D کمتر از ۷ میلی گرم بر لیتر بود (بیش از ۶۰ درصد حذف)، در تیمار C حدود ۷/۳۰ میلی گرم بر لیتر و در تیمار A به کمتر از ۱۵ میلی گرم بر لیتر رسید و پس از آن تغییر چندانی نکرد. بیشترین درصد حذف غلظت فسفات در تیمار C در روز دهم پرورش در حدود ۷۰ درصد و کمترین درصد حذف در روز چهاردهم در تیمار A در حدود ۱۱ درصد بدست آمد. نتایج آنالیز واریانس یکطرفه در مورد غلظت فسفات هیچ گونه اختلاف معنی داری را در بین اثرات زمان و تیمارهای متفاوت فیتوپلانکتونی نشان نداد ( $P > 0/05$ ).



شکل ۷- غلظت باقیمانده فسفات ( $PO_4$ ) پساب در طول آزمایش

#### ۴- بحث و نتیجه گیری

مشخص شده است که گرفتن نیتروژن و جذب آن در بیوماس فیتوپلانکتون ها از فرایندهای اصلی هستند. Fabregas و همکارانش (۱۹۸۹) افزایش مقدار نیتروژن در سلول ها را موازی با افزایش محتوی پروتئین سلولی بیان کردند. در این تحقیق نیز افزایش رشد سلول ها نشان دهنده افزایش پروتئین سلولی در ازای جذب نیترات پساب در سلول ها و در نتیجه کاهش یافتن غلظت نیترات در پساب بود. نیترات عموماً به عنوان منبع نیتروژن توسط فیتوپلانکتون ها ترجیح داده می شود و نشان داده شده که گرفتن نیترات نسبت به گرفتن نیتريت یا اوره به صرفه تر است (۱۶). Tam و Wong (۱۹۹۶) بر روی میزان رشد *Chlorella vulgaris* در غلظت های متفاوت آمونیاک (۱۰-۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر) تحقیق کرده و نشان دادند که این فیتوپلانکتون در غلظت بالای آمونیاک هم به رشد خود ادامه داده و این غلظت بالا هیچ گونه اثر کشنده ای بر روی *Chlorella vulgaris* نداشته است، همچنین آنها حدود ۹۵ درصد حذف آمونیم را در غلظت های ۸۰-۴۰ میلی گرم بر لیتر بدست آوردند. در این تحقیق نیز رشد *Chlorella vulgaris* در تمامی تیمارها کاملاً واضح بود و با نتایج بدست آمده در مطالعات قبلی هم خوانی داشت. غلظت باقیمانده نیترات در تیمارهای فیتوپلانکتونی کاهش زیادی را در روز دهم نشان داد، در صورتی که کاهش در غلظت نیتريت تا روز آخر پرورش ادامه یافت و این تمایل فیتوپلانکتون ها را به جذب نیترات نسبت به نیتريت نشان می دهد. البته Syrett (۱۹۸۱) تمایل فیتوپلانکتون ها را برای جذب کردن فرم های نیتروژن اینگونه بیان کرد: نیتروژن آمونیومی < نیترات < نیتروژن آلی مانند اوره و آمینواسید، که با نتایج بدست آمده از تحقیق پیش رو مطابقت دارد.

در کاری مشابه Demacedo و Koenig (۲۰۰۴) برای کاهش غلظت نیترات و نیتريت از پساب صنعتی ثانویه توسط *Tetraselmis chuii* حذفی در حدود ۸۶ درصد و توسط *Dunaliella viridis* به ترتیب ۸۰ درصد و ۹۶ درصد به دست آوردند. Lau و همکارانش (۱۹۹۸) نشان دادند که نیترات شکلی از انرژی است که توسط سلول های فیتوپلانکتونی برای هضم و جذب غذا گرفته می شود، بنابراین امکان از دست دادن نیترات به صورت گاز نیتروژن توسط فرایند دنیتریفیکاسیون در سیستم حاضر که تیمارها دائماً هوادهی می شدند، بعید بود. از این رو غلظت کم نیترات در تیمارها مخصوصاً آنهایی که تراکم های فیتوپلانکتونی بیشتری داشتند، نشان دهنده محدود شدن دنیتریفیکاسیون و تبدیل آمونیوم به نیترات است که این خود دلیلی بر کاهش آمونیوم و در نتیجه نیترات در این سیستم می باشد.

Przytocka-Jusiak و همکارانش (۱۹۷۷) نشان دادند که رشد *Chlorella vulgaris* در کشت های محتوی نیتروژن آمونیاکی معمولاً تغییراتی را در مقدار pH ایجاد می کند. آنها اثبات کردند که در فاز رشد لگاریتمی سلول ها، pH اسیدی و در زمانی که سلول ها در فاز تأخیر

یا سکون قرار دارند، pH قلیایی خواهد شد. این در حالی است که در تحقیق انجام شده نیز همزمان با رشد *Chlorella vulgaris* مقدار pH افزایش یافت و این شاید به علت هوادهی ثابت باشد که سبب خالی شدن پساب از آمونیاک گشته و در نتیجه محیط قلیایی شده است.

Tam و Wong (۱۹۹۶) و Lau و همکارانش (۱۹۹۴) مدت زمان لازم برای حذف کردن نیتروژن توسط میکروآلگک ها را چندین هفته گزارش نمودند در حالی که تراکم های فیتوپلانکتونی در کار حاضر خیلی مؤثرتر از کارهای پیشین عمل حذف را انجام دادند به طوری که در کمتر از دو هفته عمل حذف رخ داد. نتایج حاضر همچنین نشان داد که تراکم فیتوپلانکتونی کمتر، بازدهی حذف نیتروژن را کم خواهد کرد. البته بر اساس دیگر دستاوردها تراکم های خیلی بالای فیتوپلانکتونی نیز زیاد مؤثر نیست. این تراکم ها مقدار نفوذ نور را در میان تیمارها کم خواهد کرد و اثرات خود سایه ای را افزایش می دهد که این خود، رشد و فعالیت های متابولیکی را در سلول های فیتوپلانکتونی محدود می کند (۲۰).

کاهش فسفات نیز در تیمارهای فیتوپلانکتونی به دو شیوه، گرفتن فیتوپلانکتون ها و ته نشینی شیمیایی امکان پذیر است. گرفتن فسفات توسط فیتوپلانکتون ها مانند گرفتن نیتروژن به بیوماس فیتوپلانکتونی وابسته بود. سلول های فیتوپلانکتونی به خوبی قادرند فسفر را ذخیره کنند و هنگامی که غلظت فسفات در محیط طبیعی پایین باشد، این مقدار اضافی مورد مصرف قرار می گیرد و به ادامه رشد سلول کمک می کند (۲). بنابراین افزایش فسفات در چهار روز اول آزمایش می تواند در اثر ذخیره کردن آن در سلول های فیتوپلانکتونی باشد. Tam و Wong (۲۰۰۰) برای مهره های تثبیت شده *Chlorella vulgaris* در آلگائیت کلسیم بیش از ۹۰٪ حذف فسفات را بدست آورد. Gonzales و همکارانش (۱۹۹۷) حدود ۵۵ درصد حذف فسفات از پساب صنعتی، از ۱۱۱ میلی گرم بر لیتر فسفر کل در ۲۱۶ ساعت توسط کشت دو گونه ای *Chlorella vulgaris* و *Scenedesmus dimorphus* مشاهده نمودند. نتایج حذف فسفات در کار حاضر نیز با نتایج مطالعات قبلی مطابقت داشت. از طرف دیگر Megharaj و همکارانش (۱۹۹۲) و Moutin و همکارانش (۱۹۹۲) نشان دادند که بالا رفتن میزان pH در تیمارها به ته نشینی فسفات به صورت فسفات کلسیم کمک کرده است زیرا ته نشینی فسفات یک پدیده مهم در pH حدود ۸ و بالاتر است. Dainty و همکارانش (۱۹۸۶) دریافتند که سلول های تثبیت شده فیتوپلانکتون ها در pH ۵/۵ در غلظت فسفات بالاتر از ۱۰ میلی مولار پایدار باقی می ماند و حتی در غلظت فسفات بالاتر، پایداری این سلول ها بیشتر از ۵ روز هم می شود. افزایش pH نشان دهنده بالا رفتن قلیائیت و در نتیجه کاهش آمونیوم است و همچنین می تواند منجر به کاهش فسفات گردد که این به بالا رفتن کارایی حذف مواد مغذی کمک می کند.

علاوه بر این، مطالعه حاضر ثابت کرد که سیستم پرورش فیتوپلانکتون ها می تواند به عنوان یک جایگزین فرایند تصفیه ثانویه برای حذف مواد مغذی از پساب ها به کار گرفته شود و تراکم های فیتوپلانکتونی تأثیر زیادی روی حذف نیتروژن و فسفر از پساب نسبت به پساب بدون فیتوپلانکتون دارند و این نتیجه گیری با گزارشات Noue و Lavoie (۱۹۸۵) که نشان دادند کشت های با تراکم بالا می توانند برای تصفیه پساب ها در دوره زمانی کوتاه استفاده گردند، هم خوانی داشت. همچنین هوادهی پساب در حذف مواد مغذی از آن، کمک زیادی می کند که نباید نادیده گرفته شود.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات ریاست محترم تصفیه خانه فاضلاب بندرعباس جناب آقای مهندس علی حسین پور، و خصوصاً مسئول محترم آزمایشگاه سرکار خانم مهندس آمنه موسوی و سایر پرسنل گرامی، خانم ها فرخنده علیپور، فائقه شریفی، فائده نجفی و مریم ناظری که در اجرای این پژوهش نهایت همکاری را با ما داشته اند، صمیمانه تشکر می نمایم.

## منابع

- ۱- دیار کیان مهر، ه. ۱۳۸۴. بیولوژی جلبک ها. چاپ اول. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. صفحات ۴۳-۴۲.
- ۲- رحیمی بشر، م. ۱۳۷۹. فیتوپلانکتون. چاپ دوم. دانشکده علوم پایه رشت. انتشارات شهر سبز. صفحات ۵۱-۴۸.
3. APHA, 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater, 19th edition. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, Washington, DC.
4. Aslan, S., and Kapdan, I.K., 2006. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae, Ecological Engineering 28, 64-77.
5. Dainty, A.L.; Goulding, K.H.; Robinson, P.K.; Simpkins, I., and Tervan, M.D., 1986. Stability of alginate-immobilized algal cells, Biotechnology 28, 210-216.
6. Duerr, O.E.; Molnar, A., and Sato, V., 1998. Culture microalgae as aquaculture feeds, Marine Biotechnology, 7, 65-70.

7. Fabregas, J.; Abalde, J.,and Herrero, C., 1989. Biochemical composition and growth of the marine microalga *Dunaliella tertiolecta* (Butcher) with different Ammonium Nitrogen concentrations as Chloride, Sulphate, Nitrate and Carbonate. *Aquaculture*, 83, 289-304.
8. Gonzales, L.E.; Canizares, R.O.,and Baena, S., 1997. Efficiency of Ammonia and Phosphorus removal from a Colombian agroindustrial wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus dimorphus*. *Bioresource Technol.* 60, 259–262.
9. Koenig, L.M.,and Demacedo, J.S., 2004. Urban secondary sewage: an alternative medium for the culture of *Tetraselmis chuii* (Prasinophyceae) and *Dunaliella viridis* (Chlorophyceae), *Brazilian archives of Biology and Technology*,an International journal,vol.47,n.3, 451-459.
10. Lau, P.S., 1995. Effect of algal density on nutrient removal from primary settled waste water, *Environmental Pollution*89,59 -66.
11. Lau, P.S.; Tam, N.F.Y.,and Wong, Y.S., 1994. Effect of algal density on nutrient removal from primary settled wastewater, Department of biology and chemistry, City university of Hong Kong, *Environmental pollution* 89, 59-66.
12. Lau, P.S.; Tam, N.F.Y.,and Wong, Y.S. 1998. Carrageenan as a matrix for immobilizing microalgal cells for wastewater nutrients removal. Springer Verlag and Landes Bioscience, Berlin, Germany, pp : 145-163.
13. Lavens, P.,and Sorgeloos P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO, first edition, pp: 371-401.
14. Lavoie, A.,and de la Nouë e, J., 1985. Hyperconcentrated cultures of *Scenedesmus obliquus*: a new approach for wastewater biological tertiary treatment. *Water Research* 19, 1437-1442.
15. Martinez, M.E.; Sanchez, S.; Jimenez, J.M.; Yoysfi, F.El, and Munoz, L., 2000. Nitrogen and Phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*, *Bioresource Technology* 73 , 263-272.
16. McCarthy, J.J.; Taylor, W.R.,and Taft, J.L., 1977. Nitrogenous nutrition of the plankton in the Chesapeake Bay, I. Nutrient availability and phytoplankton preferences, *Limnology and Ocenography* 22, 996-1011.

17. Megharaj, M.; Pearson, H.W.,and Venkateswarlu, K., 1992. Removal of Nitrogen and Phosphorus by immobilized cells of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus bijugatus* isolated from soil. *Enzyme, Microbiology and Technology* 14, 656-658.
18. Moutin, T.; Gal, J.Y.; El Halouani, H.; Picot, B.,and Bontoux, J., 1992. Decrease of Phosphate concentration in a high rate pond by precipitation of Calcium Phosphate: theoretical and experimental results. *Water Research* 26, 1445-1450.
19. Muller-Feuga, A., 1997. *Microalgues Marines, Les Enjeux de la Recherche*. Ifremer, Plouzané, France, 35 pp.
20. Muller-Feuga, A., 2000. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends, Institut Français pour l'Exploitation de la Mer (Ifremer), BP 21105, 44311 Nantes cedex 03, France, *Journal of Applied Phycology* 12, 527-534.
21. Przytocka-Jusiak, M.; Miynarczyk, A.; Kulesza, M.,and Mycielski, R., 1977. Properties of *Chlorella vulgaris* strain adapted to high concentration of Ammonium Nitrogen. *Acta Microbiol. Pol.*, 26, 185-197.
22. Syrett, P. J., 1981. Nitrogen metabolism of microalgae. *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.*, 210, 182-210.
23. Tam, N. F. Y.,and Wong, Y. S., 1996. Effect of Ammonia concentrations on growth of *Chorella vulgaris* and nitrogen removal from media, *Bioresource Technology* 57, 45-50.
24. Tam, N.F.Y.,and Wong, Y.S., 2000. Effect of immobilized microalgal bead concentrations on wastewater nutrient removal, *Environmental Pollution* 107, 145-151

## The study on growth of *Chlorella vulgaris* and its effect on nutrient levels in urban wastewater

Mousavi S.A.<sup>(1)\*</sup>, Yahyavi M.<sup>(2)</sup>, Taheri zade M.<sup>(3)</sup>

[Athareh\\_m@yahoo.com](mailto:Athareh_m@yahoo.com)

1,2. Department of Fisheries, Islamic Azad University of Bandar Abbas, P.O.Box: ۷۳۱۱ Bandar Abbas, Iran.

3. Persian Gulf and Oman Sea Ecological Research Institute, P.O.Box: ۷۰۹۷ Bandar Abbas, Iran.

### Abstract

Phytoplankton are at the base of the entire aquatic food chain. Their main applications are related to nutrition in aquaculture but they can absorb nutrient wastewater and use them for their growth. Therefore culture of phytoplankton *Chlorella vulgaris* with use from urban wastewater at summer ۱۳۸۷ in Bandar Abbas treatment plant lab was investigated that we essayed moreover reduce of production cost, nutrient absorption efficiency and settlement effect its. *Chlorella vulgaris* with some density in different condition of wastewater (20, 40, 60, 80 and 100 %) for the study on growth and three initial density, ('high density'  $3 \times 10^6$  cells/ml, 'medium'  $1 \times 10^6$  cells/ml and 'low'  $5 \times 10^5$  cells/ml), were applied to primarily treated wastewater. The cell number increased gradually in the fourteen days and the rates of increase in 80 and 100% were more than other cultures. At the end of the 14 days study, over 80% of  $\text{NO}_3^-$ -N, 56%  $\text{NO}_2^-$ -N and 80%  $\text{PO}_4^{3-}$ -P were removed from wastewater in all cultures except the low density one. These results indicated that the efficiency of reducing wastewater nutrients by an phytoplankton system was directly related to the physiological activity and growth of the *Chlorella* cells which in turn were affected by the initial density. The high density culture seemed to be more beneficial as this treatment achieved satisfactory growth and nutrient removal within 10 days instead of 14.

**Key words:** *Chlorella vulgaris*, cell density, nutrient removal, urban wastewater

---

\*corresponding author