Journal of Research in Environmental Health
Volume 12, Issue 2

Evaluation of Chlorella Vulgaris for Nutrient and Heavy-Metal Removal from Municipal Wastewater (A Case Study)

Rudabeh Ravash
* Associate Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran. **(Corresponding Author)**
r.ravash@sku.ac.ir
Farahnaz Tavakoli
PhD, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
Fatemeh Razeghi-jahromi
Assistant professor in department of plant production ang genetic (biotechnology). Faculty of agriculture, Jahrom University.

Received: 2026/02/20
Accepted: 2026/06/19
Doi:10.22038/jreh.2026.99701.1770

Abstract

Background and Objective: Microalgae, particularly *Chlorella vulgaris*, offer a biological approach to wastewater treatment, with the potential for valorization of the resulting biomass. This study aimed to investigate the capacity of *C. vulgaris* to reduce nutrients, heavy metals, and microbial loads in municipal wastewater and to preliminarily assess the potential use of the resulting biomass.

Materials and Methods: Three treatments were evaluated in duplicate: untreated wastewater, wastewater containing 25% algal culture, and wastewater containing 50% algal culture. Samples were collected on days 1 and 14 and analyzed for physicochemical parameters, nitrogen and phosphorus compounds, mercury, lead, chromium, arsenic, and total and thermotolerant coliform counts. Differences between sampling times were assessed using paired t-tests.

Results: After 14 days, ammoniacal nitrogen and phosphate decreased in all treatments. The concentrations of all four heavy metals decreased, while electrical conductivity, total suspended solids, and turbidity generally increased with increasing algal concentration. Total and thermotolerant coliform counts declined to nearly zero in all treatments.

Conclusion: Heavy metals were also detected in the dried algal biomass. Cultivation of *C. vulgaris* was associated with reductions in nutrients and heavy metals and improvements in several wastewater quality indicators. However, heavy metal accumulation limits the direct use of the resulting biomass as fertilizer or animal feed without further safety assessments. Biofuel production may provide an alternative pathway for valorizing this biomass. Further studies are needed to optimize treatment conditions, quantify biomass productivity, and evaluate effluent quality and biomass safety.

Keywords: *Chlorella*; Municipal Wastewater; Nutrient Removal; Heavy Metals; Biosorption; Biological Treatment

Open Access Policy: This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. To view a copy ofthis licence, visit https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

Citation: Ravash R, Tavakoli F, Razeghi-jahromi F. Evaluation of Chlorella Vulgaris for Nutrient and Heavy-Metal Removal from Municipal Wastewater (A Case Study). *Journal of Research in Environmental Health.* 12(2):107-121.

ارزیابی تغییرات مواد مغذی، فلزات سنگین و شاخص میکروبی در فاضلاب شهری، طی تیمار با جلبک *Chlorella vulgaris* (مطالعه موردی)

رودابه راوش
* دانشیار گروه بیوتکنولوژی و به نژادی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. **(نویسنده مسئول)**
r.ravash@sku.ac.ir
فرحناز توکلی
دکتری، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
فاطمه رازقی جهرمی
استادیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۲/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۲۹
نوع مقاله: پژوهشی

چکیده

زمینه و هدف: ریزجلبک‌ها، به‌ویژه *Chlorella vulgaris*، رویکردی زیستی برای تصفیه فاضلاب ارائه می‌دهند که با امکان بهره‌برداری از زیست‌توده تولیدشده همراه است. هدف این مطالعه، بررسی توانایی *C. vulgaris* در کاهش مواد مغذی، فلزات سنگین و بار میکروبی فاضلاب شهری و ارزیابی اولیه امکان استفاده از زیست‌توده حاصل بود.

مواد و روش‌ها: سه تیمار شامل فاضلاب تصفیه‌نشده، فاضلاب حاوی ۲۵ درصد و فاضلاب حاوی ۵۰ درصد کشت جلبکی، هرکدام با دو تکرار، بررسی شدند. نمونه‌ها در روزهای اول و چهاردهم جمع‌آوری و از نظر شاخص‌های فیزیکوشیمیایی، ترکیبات نیتروژن و فسفر، جیوه، سرب، کروم، آرسنیک و تعداد کلیفرم کل و کلیفرم گرماپای ارزیابی شدند. تفاوت بین زمان‌های نمونه‌برداری با استفاده از آزمون تی‌جفت شده بررسی شدند.

یافته‌ها: پس از ۱۴ روز، نیتروژن آمونیاکی و فسفات در تمام تیمارها کاهش یافتند. غلظت هر چهار فلز سنگین کاهش یافت و هدایت الکتریکی، مواد جامد معلق و کدورت عموماً با افزایش غلظت جلبک افزایش یافتند. تعداد کلیفرم کل و کلیفرم گرماپای در تمام تیمارها به مقادیر نزدیک به صفر رسید. هم‌چنین، فلزات سنگین در زیست‌توده خشک جلبکی شناسایی شدند. کشت *C. vulgaris* با کاهش مواد مغذی و فلزات سنگین و بهبود برخی شاخص‌های کیفیت فاضلاب همراه بود.

نتیجه‌گیری: تجمع فلزات سنگین، استفاده مستقیم از زیست‌توده حاصل را به‌عنوان کود یا خوراک دام، بدون ارزیابی‌های ایمنی بیشتر، محدود می‌کند. تولید سوخت زیستی می‌تواند مسیر جایگزینی برای بهره‌برداری از این زیست‌توده باشد. انجام مطالعات بیشتر برای بهینه‌سازی شرایط تصفیه، اندازه‌گیری بهره‌وری تولید زیست‌توده و ارزیابی کیفیت پساب و ایمنی زیست‌توده ضروری است.

کلیدواژه‌ها: کلرلا، فاضلاب شهری، حذف مواد مغذی، فلزات سنگین، زیست‌جذب، تصفیه زیستی

استناد: راوش ر، توکلی ف، رازقی‌جهرمی ف. ارزیابی تغییرات مواد مغذی، فلزات سنگین و شاخص میکروبی در فاضلاب شهری، طی تیمار با جلبک *Chlorella vulgaris* (مطالعه موردی). *فصلنامه‌ی پژوهش در بهداشت محیط*. تابستان ۱۴۰۵; ۱۲(۲): ۱۰۷-۱۲۱.

مقدمه

تصفیه فاضلاب شهری و صنعتی، یکی از زیرساخت‌های کلیدی حفظ کیفیت آب برای مصارف چندمنظوره است. با این حال، حتی پس از عملیات متداول تصفیه، پساب‌های خانگی و صنعتی همچنان حاوی مقادیر قابل‌توجهی نیتروژن و فسفر هستند که تخلیه آن‌ها به پیکره‌های آبی می‌تواند به یوتریفیکاسیون رودخانه‌ها، دریاچه‌ها و دریاها منجر شود؛ بنابراین، حذف یا کاهش مواد مغذی پیش از رهاسازی نهایی فاضلاب ضروری است (۱، ۲).

روش‌های متداول حذف نیتروژن و فسفر، مانند فرآیند لجن فعال با نیتریفیکاسیون/دنتریفیکاسیون، حذف زیستی فسفر با فسفر انباشته، رسوب‌گذاری شیمیایی فسفر و انعقاد شیمیایی، معمولاً نیازمند هوادهی، مصرف انرژی، افزودن مواد شیمیایی و مدیریت لجن تولیدی هستند. برای حذف فلزات سنگین نیز رسوب‌دهی شیمیایی، تبادل یونی، جذب سطحی و جداسازی غشایی کاربرد دارند که هر یک با محدودیت‌هایی مانند مصرف مواد شیمیایی، تولید لجن سمی، نیاز به احیای منظم جاذب یا رسانه تبادل یونی و هزینه سرمایه‌گذاری و بهره‌برداری مواجه‌اند. با این حال، انتخاب روش مناسب به غلظت آلاینده، کیفیت پساب، هدف تصفیه و هزینه کل چرخه عمر وابسته است؛ برای مثال، رسوب‌گذاری شیمیایی می‌تواند در غلظت‌های بالای فلزات سریع و مؤثر باشد، اما لجن سمی تولید می‌کند و ریزجلبک‌ها در غلظت‌های کمتر و پساب‌های رقیق ممکن است با جذب زیستی و بازیابی زیست‌توده مزیت داشته باشند، هرچند به نور، زمان ماند و مدیریت رشد میکروارگانیسم‌ها وابسته‌اند (۳، ۴). اصول استفاده هدفمند از ریزجلبک‌ها در تصفیه فاضلاب، پس از کارهای پیشگامانه اسوالد و همکاران، توسط پژوهشگران متعددی توسعه یافته است (۳، ۵، ۶). در این سیستم‌ها، سلول‌های جلبکی در شرایط نوری مناسب می‌توانند کربن آلی و مواد مغذی معدنی مانند نیتروژن و فسفر را از فاضلاب جذب و در زیست‌توده خود ذخیره کنند (۱). در طول فتوسنتز، ریزجلبک‌ها اکسیژن تولید می‌کنند و بدین ترتیب تا حدی نیاز به هوادهی مکانیکی را کاهش می‌دهند و به مصرف دی‌اکسید کربن نیز کمک می‌کنند (۷). بسته به هدف تصفیه، ریزجلبک‌ها می‌توانند در مراحل اولیه، ثانویه یا پیشرفته و به‌صورت مستقل یا در ترکیب با فرآیندهای متداول به کار روند؛ در این سیستم‌های تلفیقی، باکتری‌ها با تجزیه ترکیبات آلی، کربن، نیتروژن و فسفر مورد نیاز رشد جلبک را تأمین می‌کنند و جلبک‌ها نیز اکسیژن لازم برای فعالیت باکتری‌ها را فراهم می‌سازند و در نهایت زیست‌توده جلبکی برداشت می‌شود (۸، ۹، ۱۰). ریزجلبک‌ها از طریق جذب ترکیبات نیتروژن و فسفر و استفاده از مواد مغذی موجود در پساب فاضلابهای نفتی (۱۱)، پساب دامداری (۱۲، ۱۳)، پساب شور (۱۴) و سایر پسابهای شهری و صنعتی برای رشد، می‌توانند به کاهش بار آلاینده‌های مغذی و بهبود کیفیت پساب کمک کنند و هم‌زمان زیست‌توده‌ای با ارزش تولید نمایند.

در میان گونه‌های مختلف، ریزجلبک سبز *Chlorella vulgaris* به دلیل رشد سریع، سازگاری با شرایط متنوع و توانایی بالای جذب مواد مغذی و فلزات سنگین، به‌طور گسترده‌ای در تصفیه فاضلاب مطالعه شده است. برای نمونه، عزیزی و همکاران (۲۰۲۱) با کشت *C. vulgaris* در فاضلاب تصفیه‌شده درون یک فتوبیوراکتور غشایی صفحه‌تخت، حذف حدود ۵۷ درصدی نیترات و ۴۳ درصدی فسفات را گزارش کردند (۱۵). پوجا و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که این گونه می‌تواند در فاضلاب شهری، نیترات، COD و BOD را به‌ترتیب تا حدود ۹۳، ۹۵ و ۹۲ درصد کاهش دهد و پساب تصفیه‌شده را به‌عنوان کود زیستی برای گوجه‌فرنگی به کار برد (۱۶). فاضل و همکاران (۲۰۲۱) نیز با استفاده از *C. vulgaris* در پساب نساجی، حذف بیش از ۸۰ درصدی نیتروژن و فسفر را حاصل کردند (۱۷). در زمینه فلزات سنگین، سیلوا و همکاران (۲۰۲۲) کشت این جلبک در فاضلاب صنعتی نفت را همراه با راندمان بالای گیاه‌پالایی برای مس، منگنز، مولیبدن و هیدروکربن‌های نفتی گزارش کردند (۱۱) و مطالعات دیگر نیز توانایی *Chlorella* در حذف کروم، مس، روی و سایر فلزات را تأیید کرده‌اند (۱۸، ۱۹). علاوه بر این، پژوهش‌هایی نشان داده‌اند که نوع فاضلاب، نسبت رقت، تراکم جلبک و شرایط محیطی

مانند نور و دما تأثیر مهمی بر رشد زیست‌توده و راندمان حذف آلاینده‌ها دارند (۲۰، ۲۱).

با وجود شواهد گسترده درباره کارایی *vulgaris* . در حذف جداگانه مواد مغذی یا فلزات، مطالعاتی که به‌طور هم‌زمان تغییرات مواد مغذی، چندین فلز سنگین و شاخص‌های میکروبی را در فاضلاب شهری واقعی بررسی کنند، محدود هستند. از سوی دیگر، تجمع فلزات سنگین در زیست‌توده حاصل از تصفیه فاضلاب، امکان استفاده مستقیم از آن به‌عنوان کود زیستی یا خوراک دام را محدود می‌کند و نیازمند ارزیابی ایمنی و ترکیب شیمیایی پیش از هرگونه ارزش‌افزایی است (۲۲، ۲۳).

بر این اساس، پژوهش حاضر، ارزیابی توانایی *C. vulgaris* در حذف هم‌زمان برخی مواد مغذی (نیتروژن آمونیاکی، نیترات و فسفات)، فلزات سنگین (جیوه، سرب، کروم و آرسنیک) و شاخص‌های میکروبی (کلیفرم کل و کلیفرم گرماپای) از فاضلاب شهری در سه تیمار شامل فاضلاب خالص، فاضلاب حاوی ۲۵ درصد زیست‌توده جلبک و فاضلاب حاوی ۵۰ درصد زیست‌توده جلبک طی ۱۴ روز بود. این مطالعه با بررسی حذف آلاینده‌ها به همراه تغییرات در ویژگی‌های پساب و تجمع فلزات سنگین در زیست توده، دیدگاهی در مورد مزایا و محدودیت‌های بالقوه تلقیح عمدی ریزجلبک‌ها در شرایط فاضلاب شهری غیر استریل ارائه می‌دهد.

روش‌کار

کشت جلبک کلرلا

ابتدا جدایه خالص میکروجلبک *C. vulgaris* از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شد. افزایش حجم استوک اولیه در شرایط استریل، در ارلن با محیط کشت TMRL بر اساس Liao و Huang (۱۹۷۰) انجام شد (۲۴). محلول غلیظ TMRL شامل KNO_3، $Na_2HPO_4{\cdot}12H_2O$، $FeCl_3{\cdot}6H_2O$ و $Na_2SiO_3{\cdot}9H_2O$ در آب مقطر است؛ این ترکیبات به‌ترتیب منابع نیتروژن، فسفر، آهن و سیلیسیم را فراهم می‌کنند. برای تهیه محلول غلیظ، مقادیر گزارش‌شده شامل ۱۰۰ گرم KNO_3، ۱۰ گرم $Na_2HPO_4{\cdot}12H_2O$، ۳ گرم $FeCl_3{\cdot}6H_2O$ و ۱ گرم $Na_2SiO_3{\cdot}9H_2O$ در حجم نهایی ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر است. محیط کشت در انکوباتور شیکردار در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و تابش نور در حدود ۳۰۰۰ لوکس، به صورت متناوب (۱۲ ساعت روشن و ۱۲ ساعت خاموش) انجام شد. در ادامه کشت جلبک در وان‌های پلی‌اتیلن با حجم ۵۰۰ لیتر برای افزایش حجم کشت در گلخانه انجام شد و دمای گلخانه به صورت کنترل‌شده بین ۲۵ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.

تیمارهای آزمایش

پساب تصفیه نشده در مرحله پس از آشغالگیری، از پساب ورودی تصفیه خانه پساب شهری شمال اصفهان برداشت شد. واحدهای آزمایشی شامل دبه های ۱۰ لیتری شفاف با هوادهی متناوب جهت حفظ اختلاط، در دمای ۲۵ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد، با نور در حدود ۳۰۰۰-۵۰۰۰ لوکس، به صورت ۱۴ ساعت نور روز و ۱۰ ساعت شب، در گلخانه به صورت طرح کاملا تصادفی قرار داده شدند. با استفاده از نسبت های مختلف محلول جلبک خالص *C. vulgaris* با غلظت 10^7 سلول در هر میلی‌لیتر، مایه زنی شد. تیمارها به‌ترتیب شامل تیمار ۱ (۱۰۰ درصد پساب)، تیمار ۲ (۷۵ درصد پساب + ۲۵ درصد جلبک) و تیمار ۳ (۵۰ درصد پساب + ۵۰ درصد جلبک) بودند. کشت در دو تکرار انجام گرفت. برای جبران تبخیر واحدهای آزمایشی از آب مقطر جوشیده شده برای رساندن به حجم ۱۰ لیتر استفاده گردید.

نمونه برداری و اندازه‌گیری پارامترهای پساب

نمونه برداری در ظروف استریل، از سه تیمار آزمایش با شرایط کنترل‌شده (دما، نور، و هوادهی) با دو تکرار، در روز اول و روز چهاردهم انجام شد ، نمونه ها برای سنجش معیارهای مختلف با استاندارد روش ذکر شده در پرانتز برای هر پارامتر، فسفر کل و فسفات کل (4500-P-C)، نیتروژن کل ونیترات (4500 NO_3-D)، کل جامدات معلق (2540 D)، ازت آمونیاکی (4500 NH_3-B-C)، کدورت (2130 B)،BOD (5210 D)، COD (5220 D)، EC (2510 B) و pH (4500 H+)، فلزات سنگین (3112B Hg، 3113 B Pb، 3113B Cr، As 3113C) و کلیفرم کل (9060) و کلیفرم گرماپای (9060) مربوط به پساب در آزمایشگاه آب و فاضلاب (آبفا) اصفهان مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. شناسایی نوع

جلبک های موجود در پساب به صورت مورفولوژیکی و زیر میکروسکوپ انجام گرفت.

تحلیل آماری داده‌ها

این آزمایش با استفاده از روش T-test جفت شده، بین جفت نمونه های روز اول و روز چهاردهم برای هر تیمار به طور جداگانه (تیمار ۱: پساب خالص (بدون جلبک)، تیمار ۲: پساب با تراکم ۲۵ درصد جلبک کلرلا و تیمار ۳: پساب با تراکم ۵۰ درصد جلبک کلرلا) مورد سنجش قرار گرفت و درنرم افزار اکسل رسم نمودار و تحلیل داده‌ها انجام شد، نتایج به‌صورت mean ± SD گزارش شدند.

یافته‌ها

شناسائی مورفولوژیکی جلبک های موجود در پساب

پساب خالص برای شناسایی تنوع جنس های جلبک موجود در آن، در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت، عمدتا جلبک سبز از جنس *Scenedesmus* به همراه تعداد کمی جلبک کلنی *Pandorina*، جلبکهای جنس *Chlamydomonas* و تعداد محدودی *Chlorella*، جلبک *Trachelomonas*، جلبک تک سلولی سبز *Monoraphidium*، دیاتومه *Fragilaria*، دیاتومه *Pinnularia* و تعداد معدود جلبک سبز رشته ای *Ulothrix* مشاهده شدند.

اندازه‌گیری میزان EC[1]:

با افزایش غلظت کل مواد جامد محلول در آب، هدایت الکتریکی (EC) آن نیز افزایش می‌یابد، در این آزمایش در غلظتهای بالاتر جلبک مقادیر EC بالاتری مشاهده شد **(شکل ۱)**.

اندازه‌گیری نیاز شیمیایی به اکسیژن (COD[2])

نتایج **(شکل ۲)** نشان داد که با افزایش غلظت جلبک در تیمارهای ۱ و ۲، میزان COD افزایش یافت. در تیمار ۱ (پساب خالص)، افزایش COD بعد از ۱۴ روز به به میزان دو برابر اتفاق افتاد. در تیمار ۲ (تراکم ۲۵ درصد جلبک)، افزایش بیشتر COD نسبت به تیمار ۱، احتمالاً به دلیل ترشح متابولیت‌های آلی توسط جلبک‌ها رخ داده است. تیمار ۳ (تراکم ۵۰ درصد جلبک)، افزایش COD مشاهده نشد، که ممکن است به دلیل تعادل بین تولید و تجزیه مواد آلی توسط جلبک‌ها باشد.

اندازه‌گیری میزان نیاز بیولوژیکی به اکسیژن (BOD[3])

بررسی نتایج **(شکل ۳)** نشان داد میزان نیاز بیولوژیکی به اکسیژن (BOD) مشابه COD، با افزایش غلظت جلبک در تیمارهای ۱ و ۲، افزایش یافت، در تیمار ۱ (پساب خالص)، افزایش BOD پس از ۱۴ روز به میزان بیش از دو برابر در پساب مشاهده شد. در تیمار ۲ (تراکم ۲۵ درصد جلبک)، افزایش بیشترBOD، به دلیل فعالیت زیستی جلبک‌ها و میکروارگانیسم‌های مرتبط وجود داشت. تیمار ۳ (تراکم ۵۰ درصد جلبک)، افزایش BOD مشاهده نشد، که می‌تواند به دلیل فتوسنتز قوی‌تر جلبک‌ها باشد که منجر به تولید اکسیژن و کاهش مواد آلی قابل تجزیه شده است.

اندازه‌گیری میزان جامدات معلق (TSS[4])

پارامترهای کل جامدات معلق (TSS)، کدورت و pH از شاخص‌های کلیدی در ارزیابی کیفیت پساب و تأثیر فعالیت‌های زیستی مانند جلبک‌ها هستند. جلبک‌ها به دلیل رشد و متابولیسم خود می‌توانند بر این پارامترها اثر بگذارند (۸).

کل جامدات معلق در **شکل ۴**، با افزایش غلظت جلبک، در محلول افزایش یافت. در تیمار ۱ (پساب خالص)، افزایش TSS احتمالاً به دلیل رشد جلبکهایی که در مقادیر کم در پساب اولیه حضور داشته اند رخ داده است. در تیمار ۲ (تراکم ۲۵ درصد جلبک)، افزایش بیشتر TSS به دلیل حضور جلبک‌ها به‌عنوان ذرات معلق بود و در تیمار ۳ (تراکم ۵۰ درصد جلبک)، افزایش یا کاهش چشمگیری در TSS مشاهده نشد، که ممکن است به دلیل تعادل بین رشد جلبک‌ها و رسوب‌گذاری آن‌ها باشد

اندازه‌گیری کدورت[5]

با افزایش غلظت جلبک، کدورت محلول افزایش یافت، اما در تیمار ۳ رفتار متفاوتی مشاهده شد. در تیمار ۱ و ۲، افزایش کدورت به دلیل وجود ذرات معلق غیرجلبکی و به دلیل پراکندگی نور توسط جلبک‌ها می باشد. در تیمار ۳ (تراکم ۵۰ درصد جلبک): کاهش کدورت مشاهده شد، که

[1] ElectricaL Conductivity
[2] chemical oxygen demand
[3] biochemical oxygen demand
[4] total suspended solids
[5] Turbidity

می‌تواند ناشی از جذب یا تثبیت ذرات معلق غیرجلبکی توسط جلبک‌ها، مصرف ترکیبات آلی محلول، یا تجمع و رسوب بهینه جلبک‌ها باشد (**شکل ۵**).

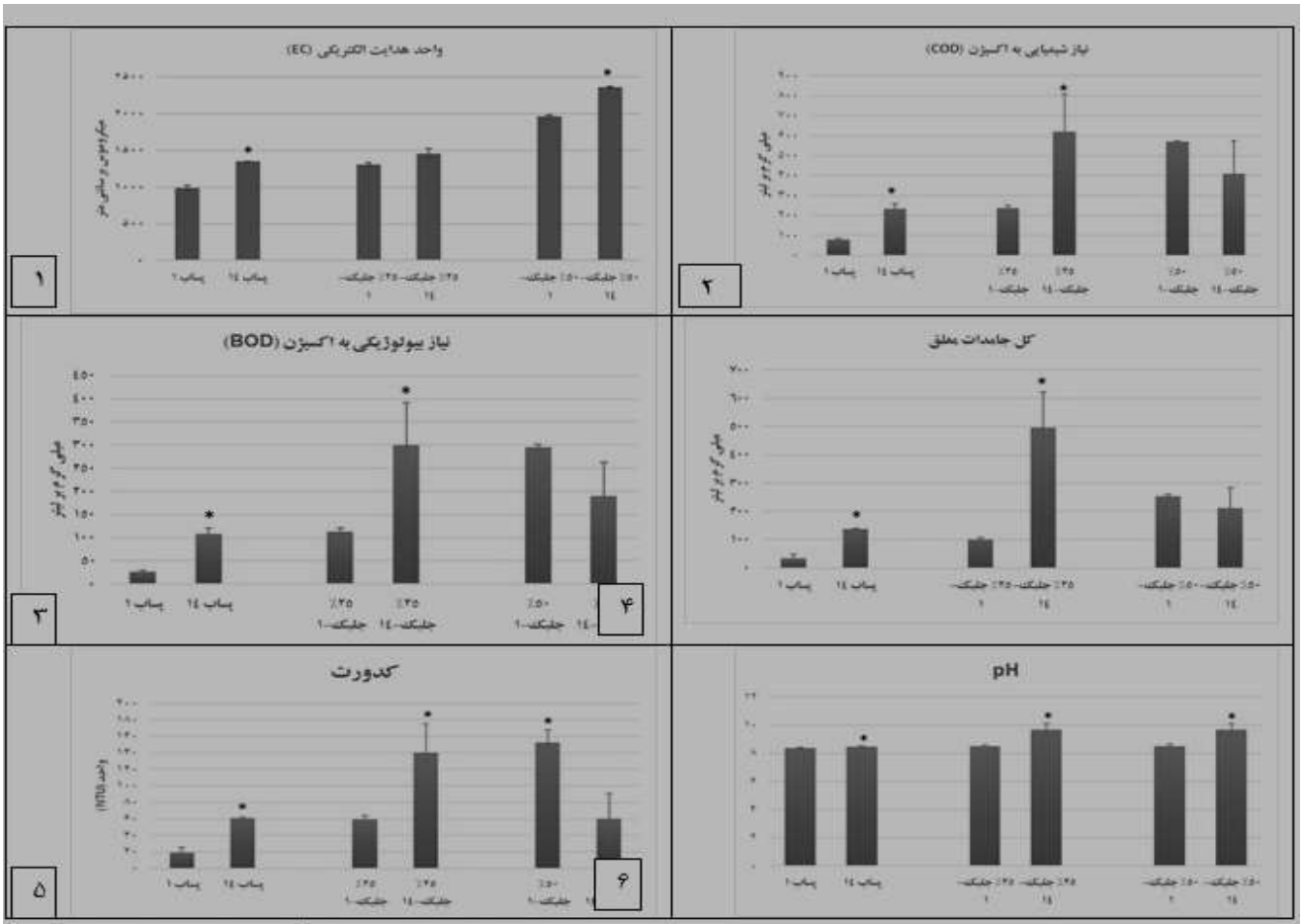
اندازه‌گیری میزان pH

طبق **شکل ۶**، در تمامی تیمارها، افزایش معنی‌داری در pH محیط مشاهده شد، تیمار ۱ (پساب خالص): افزایش ناچیز pH احتمالاً به دلیل فعالیت میکروبی یا تجزیه مواد آلی بوده است. تیمار ۲ و ۳ (تراکم ۲۵ و ۵۰ درصد جلبک)، افزایش بیشتر pH به دلیل فعالیت فتوسنتزی جلبک‌ها که دی‌اکسید کربن را مصرف کرده و محیط را قلیایی‌تر می‌کند (۸). شایان ذکر است که pH محدوده‌ی مجاز تخلیه پساب به محیط یا استفاده مجدد، معمولاً حدود ۶/۵ تا ۸/۵ است، و پس از کشت جلبک pH فراتر می‌رود، بنابراین لازم است pH پساب قبل از استفاده مجدد بهینه گردد.

میزان ازت آمونیاکی در تمامی تیمارها پس از ۱۴ روز به طور چشمگیری کاهش یافت (**شکل۷**). در تیمار ۱ (پساب خالص)، کاهش ازت آمونیاکی همراه با افزایش قابل‌توجه جلبک‌های سبز مشاهده شد. در تیمارهای ۲ و ۳ (حاوی جلبک کلرلا)، کاهش ازت آمونیاکی به دلیل جذب مستقیم توسط جلبک‌ها بارزتر بود.

کاهش ازت آمونیاکی در تمامی تیمارها به دلیل جذب آمونیوم توسط جلبک‌ها و فرآیندهای نیتریفیکاسیون توسط باکتری‌هایی مانند *Nitrosomonas* است که آمونیاک را به نیتریت و سپس نیترات تبدیل می‌کنند. در تیمار ۱، رشد خودبه‌خودی جلبک‌های سبز نشان‌دهنده وجود مواد مغذی کافی در پساب و شرایط مناسب برای رشد جلبک‌هاست. جلبک کلرلا در تیمارهای ۲ و ۳ به دلیل تراکم بالاتر، آمونیاک را به طور مؤثرتری جذب کرده و در بیومس خود ذخیره می‌کند (۱).

اندازه‌گیری میزان ازت آمونیاکی



شکل‌های ۱-۶: فاکتورهای فیزیکوشیمیایی اندازه‌گیری شده در پساب، علامت (*) نشان دهنده تفاوت آماری بین روز اول و روز چهاردهم بر اساس آزمون t-test جفتی می باشد.

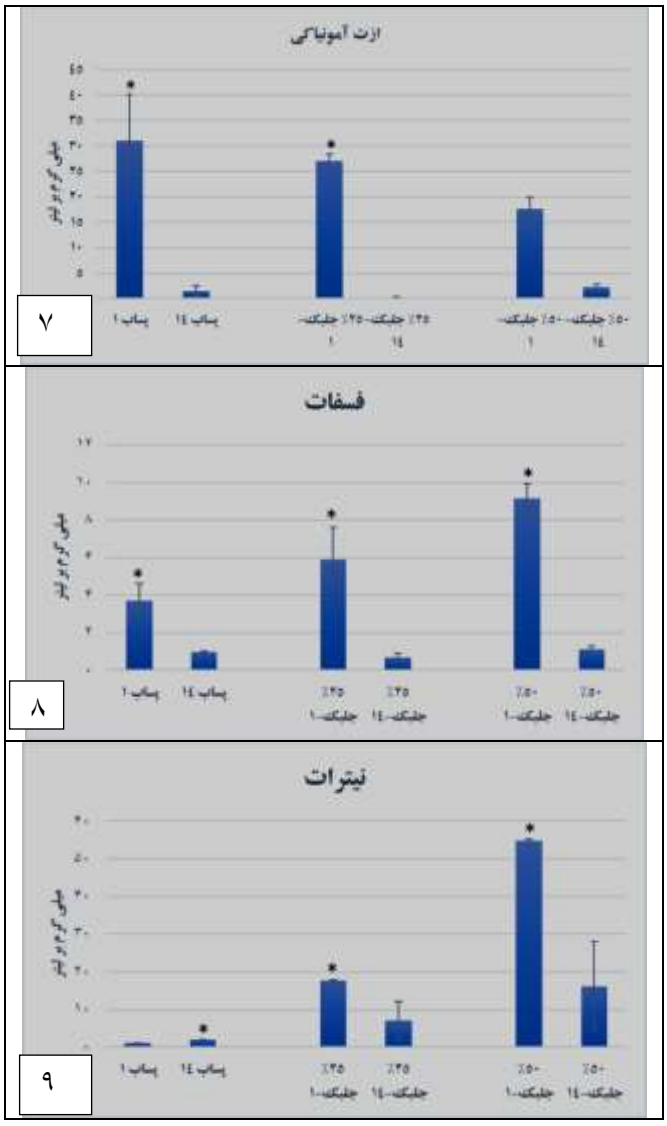
اندازه‌گیری میزان فسفات کل

میزان فسفات در تمامی تیمارها پس از ۱۴ روز به طور قابل‌توجهی کاهش یافت و به حدود ۱ میلی‌گرم بر لیتر رسید (**شکل ۸**).

کاهش چشمگیر فسفات در تمامی تیمارها می‌تواند به دلیل جذب مستقیم توسط جلبک‌ها (و فرآیندهای زیستی یا شیمیایی (مانند رسوب‌گذاری یا جذب میکروبی) باشد. جلبک کلرلا فسفات را به‌عنوان یک ماده مغذی ضروری برای فتوسنتز و رشد جذب می‌کند. (۱، ۲۵).

اندازه‌گیری میزان نیترات

پس از ۱۴ روز، میزان نیترات در تیمارهای حاوی جلبک *C. vulgaris* (تیمارهای ۲ و ۳) کاهش یافت، در حالی که در تیمار ۱ (پساب خالص) افزایش کمی مشاهده شد (**شکل ۹**). کاهش نیترات در تیمارهای ۲ و ۳ احتمالاً ناشی از جذب و assimilation نیتروژن توسط زیست‌توده جلبکی بوده است؛ با این حال، با توجه به حضور همزمان آمونیوم، نمی‌توان سهم نسبی جذب نیترات و سایر مسیرهای تبدیل نیتروژن را بدون اندازه‌گیری واسطه‌هایی مانند نیتریت تعیین کرد. افزایش اندک نیترات در تیمار ۱ نیز می‌تواند با تبدیل زیستی نیتروژین، از جمله نیتریفیکاسیون، مرتبط باشد؛ با این حال، برای تعیین مسیر غالب به اندازه‌گیری گونه‌های واسطه نیتروژن نیاز است (۱۵، ۲۵، ۲۶).



شکل‌های ۷-۹. ترکیبات اندازه‌گیری شده در پساب شامل ازت آمونیاکی، فسفات کل و نیترات، علامت (*) نشان دهنده تفاوت آماری بین روز اول و روز چهاردهم بر اساس آزمون t-test جفتی می باشد.

اندازه‌گیری فلزات سنگین

اندازه‌گیری میزان جیوه

میزان فلز سنگین جیوه در تمام نمونه ها کاهش یافت **(شکل ۱۰)**. کاهش غلظت جیوه در پساب به احتمال زیاد به دلیل جذب زیستی (Biosorption) و تجمع زیستی (Bioaccumulation) توسط جلبک کلرلا در تیمارهای ۲ و ۳ است. دیواره سلولی جلبک کلرلا حاوی گروه‌های عاملی مانند کربوکسیل و آمین است که می‌توانند با یون‌های جیوه (Hg^{2+}) پیوند تشکیل دهند. در تیمار ۱ (پساب خالص)، کاهش جیوه ممکن است به دلیل رسوب‌گذاری شیمیایی یا فعالیت میکروارگانیسم‌های طبیعی و جذب زیستی توسط جلبکهای رشد یافته در پساب اولیه بعد از ۱۴ روز، باشد. توانایی کلرلا در حذف جیوه نشان‌دهنده پتانسیل آن در تصفیه پساب‌های آلوده به این فلز سمی است (۱۸، ۱۹).

اندازه‌گیری میزان سرب

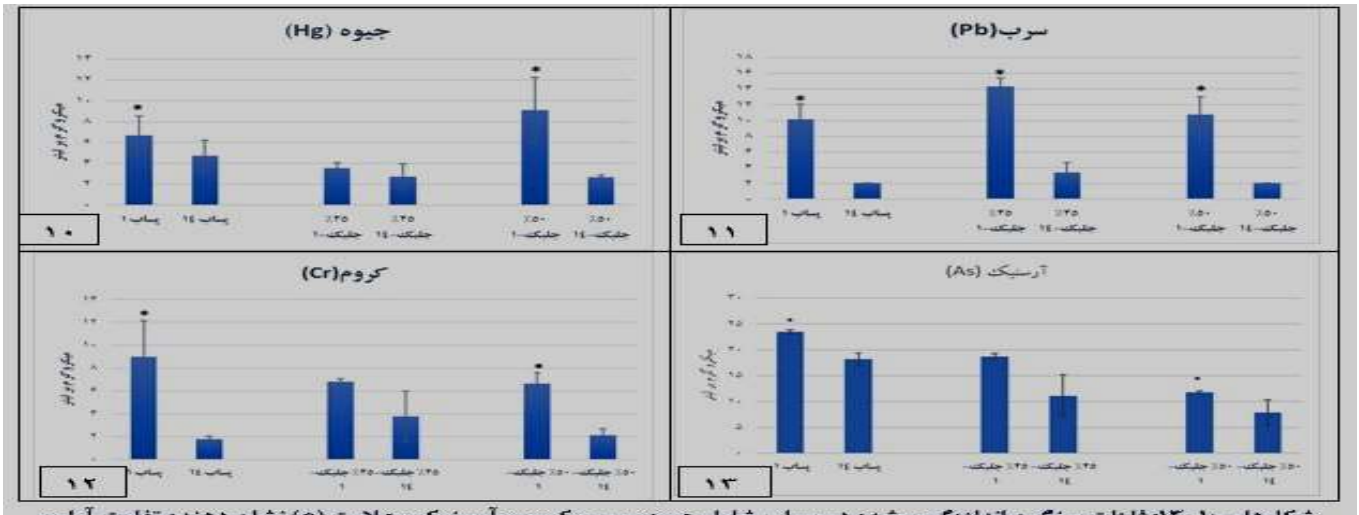
میزان فلز سنگین سرب در تمام نمونه ها کاهش یافت و به حدود ۲ میکرو گرم در لیتر رسید **(شکل ۱۱)**. کاهش سرب در تمامی تیمارها به جذب زیستی توسط جلبک کلرلا در تیمارهای ۲ و ۳ و احتمالاً رسوب‌گذاری شیمیایی در تیمار ۱ نسبت داده می‌شود. سرب (Pb^{2+}) به دلیل بار الکتریکی و اندازه یونی خود به‌راحتی با گروه‌های عاملی دیواره سلولی جلبک پیوند می‌دهد. رسیدن غلظت سرب به حدود ۲ میکروگرم بر لیتر در تمامی تیمارها نشان‌دهنده وجود یک حد آستانه برای حذف سرب در این سیستم است، که می‌تواند به ظرفیت جذب جلبک یا شرایط شیمیایی پساب مانند pH مرتبط باشد. تجزیه و تحلیل جلبک خشک‌شده تأیید می‌کند که سرب در بیومس جلبک تجمع یافته است (۱۸).

اندازه‌گیری میزان کروم

میزان فلز سنگین کروم در تمام نمونه‌ها کاهش یافت و به حدود ۲ میلی‌گرم بر لیتر رسید **(شکل ۱۲)**. کاهش کروم در پساب به احتمال زیاد با جذب زیستی در تیمارهای ۲ و ۳ و نیز فرآیندهای شیمیایی یا میکروبی در محیط مرتبط است (۱۹، ۲۷).

اندازه‌گیری میزان آرسنیک

میزان فلز سنگین آرسنیک در تمام نمونه ها کاهش یافت. کاهش آرسنیک به احتمال زیاد به دلیل جذب زیستی توسط جلبک کلرلا در تیمارهای ۲ و ۳ است **(شکل ۱۳)**. آرسنیک می‌تواند به‌صورت آرسنات (AsO_4^{3-}) یا آرسنیت (AsO_3^{3-}) در پساب وجود داشته باشد، و جلبک کلرلا توانایی جذب هر دو شکل را از طریق مکانیسم‌های مشابه جذب فسفات دارد. در تیمار ۱، کاهش آرسنیک ممکن است ناشی از رسوب‌گذاری شیمیایی یا فعالیت میکروارگانیسم‌های طبیعی از جمله جلبک موجود در پساب باشد. تجزیه‌وتحلیل جلبک خشک‌شده می‌تواند تأیید کند که آرسنیک در بیومس جلبک تجمع یافته است (۱۹، ۲۷).



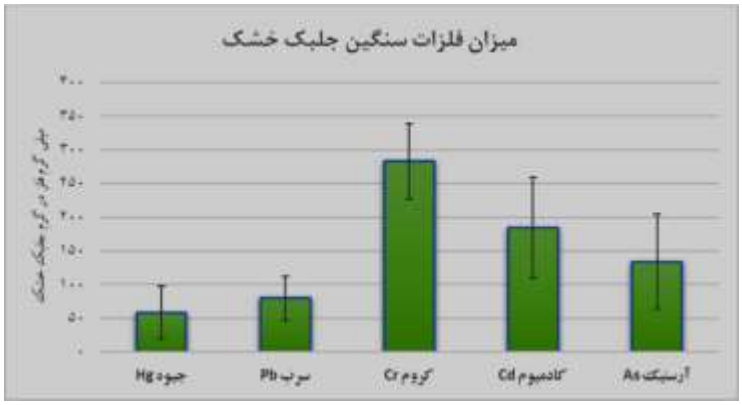
شکل‌های ۱۰-۱۳: فلزات سنگین اندازه‌گیری‌شده در پساب شامل جیوه، سرب، کروم و آرسنیک ، علامت (*) نشان دهنده تفاوت آماری بین روز اول و روز چهاردهم بر اساس آزمون t-test جفتی می باشد.

اندازه‌گیری میزان فلزات سنگین جلبک خشک رشد یافته در پساب

پس از ۱۴ روز، جلبک‌هایی که در پساب رشد کرده بودند، صاف شده و در آون خشک شدند. یک گرم جلبک خشک‌شده برای اندازه‌گیری فلزات سنگین شامل جیوه، سرب، کروم و آرسنیک در دو تکرار تجزیه‌وتحلیل شد. اندازه‌گیری فلزات در زیست‌توده برای بررسی امکان انتقال و تجمع آلاینده‌ها در زیست‌توده انجام گرفت (**شکل ۱۴**).

کشت جلبک در پساب با کاهش غلظت جیوه، سرب، کروم و آرسنیک در پساب مایع و افزایش میزان فلزات سنگین در زیست توده خشک، همراه بود. این الگو می‌تواند با جذب سطحی، تجمع در زیست‌توده و نیز فرآیندهای شیمیایی و میکروبی در محیط مرتبط باشد؛ با این حال، داده‌های حاضر به‌تنهایی امکان تفکیک دقیق این مکانیسم‌ها را فراهم نمی‌کنند.

این یافته‌ها پتانسیل جلبک کلرلا را در تصفیه زیستی پساب‌های آلوده به فلزات سنگین تأیید می‌کند، اما استفاده از این ریزجلبک برای کود زیستی بالقوه مستلزم احتیاط بیشتری است و سطح فلزات سنگین باید سنجیده شود. لذا با توجه به موادی که از پساب جذب شده است ماهیت استفاده از جلبک برای کود زیستی بالقوه یا خوراک دام و یا استخراج روغن زیستی مشخص می گردد (۲۲، ۲۳).



شکل ۱۴. غلظت فلزات سنگین اندازه‌گیری‌شده در زیست‌توده خشک جلبک‌های رشدیافته در پساب

بار میکروبی

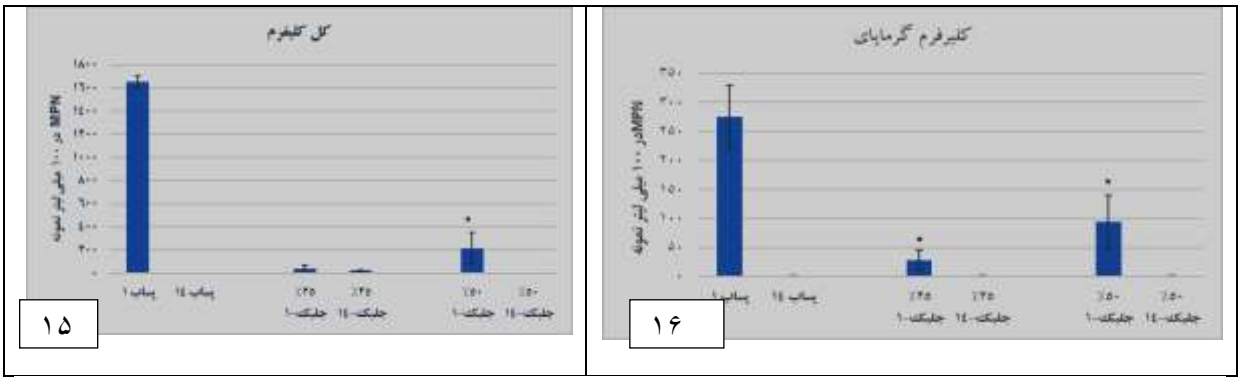
باکتری‌های کلیفرم و کلیفرم گرماپای (فکال کلیفرم) از شاخص‌های مهم در ارزیابی آلودگی میکروبی پساب‌های شهری و صنعتی هستند. در سیستم‌های جلبکی، تغییر pH، شرایط اکسیژنی، دسترسی به مواد مغذی و برهم‌کنش‌های زیستی می‌توانند بر بقای شاخص‌های میکروبی اثر بگذارند. با این حال، در مطالعه حاضر به دلیل وجود هوادهی مداوم و مشاهده کاهش بار میکروبی در تیمار پساب خالص نیز، سهم مستقل *C. vulgaris* در این کاهش را نمی‌توان به‌طور قطعی تعیین کرد (۲۸، ۲۹).

میزان باکتری‌های کلیفرم و کلیفرم گرماپای در تمامی تیمارها (تیمارهای ۱، ۲ و ۳) پس از ۱۴ روز هوادهی به نزدیک صفر رسید (**شکل‌های ۱۵ و ۱۶**).

کاهش چشمگیر بار میکروبی در تمامی تیمارها احتمالاً حاصل اثر ترکیبی زمان تماس ۱۴ روزه، هوادهی مداوم، تغییرات شرایط فیزیکوشیمیایی و فعالیت میکروارگانیسم‌های موجود در پساب بوده است. افزایش pH و تغییر شرایط اکسیژنی نیز می‌توانند بر بقای کلیفرم‌ها اثر بگذارند. با توجه به کاهش بار میکروبی در تیمار پساب خالص، نمی‌توان کاهش مشاهده‌شده را به‌طور اختصاصی به *C. vulgaris* نسبت داد.

در تیمارهای ۲ و ۳، فعالیت *C. vulgaris* ممکن است از طریق تغییر pH، مصرف بخشی از مواد مغذی و سایر برهم‌کنش‌های زیستی بر بار میکروبی اثر گذاشته باشد. با این حال، این مکانیسم‌ها در مطالعه حاضر مستقیماً اندازه‌گیری نشدند و بنابراین باید به‌عنوان توضیحات احتمالی در نظر گرفته شوند.

پس از ۱۴ روز هوادهی، میزان باکتری‌های کلیفرم و کلیفرم گرماپای در هر سه تیمار به نزدیک صفر رسید. این نتیجه نشان‌دهنده پتانسیل سیستم برای کاهش شاخص‌های میکروبی است، اما به دلیل کاهش مشابه در تیمار شاهد، نقش اختصاصی *C. vulgaris* در این فرآیند نیازمند آزمایش‌های کنترل‌شده‌تر است.



شکل‌های ۱۵–۱۶. شاخص‌های میکروبی پساب شامل کلیفرم کل و کلیفرم گرماپای. علامت (*) نشان‌دهنده تفاوت آماری بین روز اول و روز چهاردهم بر اساس آزمون t-test جفتی است.

بحث

در پژوهش حاضر، اثر افزودن زیست‌توده *C. vulgaris* در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ درصد بر تغییرات ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، مواد مغذی، فلزات سنگین و شاخص‌های میکروبی فاضلاب شهری طی ۱۴ روز بررسی شد. در بیشتر شاخص‌های کلیدی از جمله نیتروژن آمونیاکی، فسفات، نیترات و فلزات سنگین، کاهش غلظت در پساب مشاهده شد، اما هم‌زمان برخی پارامترها مانند هدایت الکتریکی، جامدات معلق و کدورت با افزایش تراکم جلبک تمایل به افزایش نشان دادند. هم‌چنین بار کلیفرم‌ها و کلیفرم‌های گرماپای در همه تیمارها، از جمله تیمار شاهد، به نزدیک صفر رسید. این الگوی نتایج، هم‌سو با شواهد پیشین درباره کارایی ریزجلبک‌ها در تصفیه فاضلاب است، اما تفاوت‌هایی نیز در جزئیات پاسخ شاخص‌ها وجود دارد. تصفیه پساب با استفاده از ریزجلبک‌ها رویکردی زیستی برای حذف مواد مغذی و بازیابی منابع ارزشمند از جریان‌های پساب است؛ بااین‌حال، کارایی این فرایند به ویژگی‌های پساب و نسبت مواد مغذی موجود در آن وابسته است (۲).

کاهش چشمگیر نیتروژن آمونیاکی و فسفات در همه تیمارها، به‌ویژه در حضور *C. vulgaris*، نشان‌دهنده جذب فعال این مواد مغذی توسط زیست‌توده جلبکی و احتمالاً فعالیت هم‌زمان میکروارگانیسم‌های بومی است. در تیمارهای حاوی جلبک، کاهش نیترات نیز مشاهده شد، در حالی که در فاضلاب خالص افزایش اندکی رخ داد که می‌تواند با فرآیندهای نیتریفیکاسیون و تبدیل نیتروژن آلی به نیترات مرتبط باشد. این یافته با گزارش‌های پیشین درباره توانایی *Chlorella* در حذف نیترات و فسفات از فاضلاب‌های مختلف هم‌خوانی دارد (۱۵، ۲۵).

پوجا و همکاران با استفاده از *C. vulgaris* در فاضلاب شهری، کاهش‌های بسیار بالاتری در نیترات، COD و BOD(به‌ترتیب تا حدود ۹۳، ۹۵ و ۹۲ درصد) گزارش کردند و پساب تصفیه‌شده را به‌عنوان کود زیستی برای گوجه‌فرنگی به کار بردند (۱۶). در مطالعه حاضر نیز روند کلی کاهش نیترات مشابه است. پاسخ COD و BOD پیچیده‌تر بود؛ به‌طوری‌که در تیمارهای شاهد و ۲۵ درصد جلبک افزایش یافتند و تنها در تیمار ۵۰ درصد جلبک افزایش محسوسی مشاهده نشد. این تفاوت می‌تواند ناشی از تفاوت در نوع فاضلاب، بار آلی اولیه، شدت هوادهی، تراکم جلبک و تعادل بین ترشح متابولیت‌های آلی توسط

جلبک و تجزیه باکتریایی باشد. گائو و همکاران نیز در سیستم فتوبیوراکتور غشایی، حذف قابل‌توجهی از نیترات، فسفات، COD و BOD توسط *C. vulgaris* گزارش کردند و فتوسنتز و زیست‌جذب را مکانیسم‌های اصلی دانستند (۲۵).

در سیستم‌های بزرگ‌مقیاس‌تر مانند حوضچه‌های جلبکی با نرخ بالا (HRAPs[1])، جلبک‌های غالب از جنس *Chlorella* و *Scenedesmus* توانستند حذف قابل‌توجهی از نیترات، فسفات، COD و BOD ایجاد کنند و جذب زیستی و رسوب‌گذاری به‌عنوان مکانیسم‌های مهم شناسایی شدند (۹). نتایج مطالعه حاضر نیز با این الگو هم‌سو است، هرچند در مقیاس آزمایشگاهی و با زمان ماند کوتاه‌تر انجام شده و کنترل دقیق‌تری بر شرایط نوری و هوادهی وجود داشته است.

غلظت جیوه، سرب، کروم و آرسنیک در همه تیمارها کاهش یافت و تحلیل زیست‌توده خشک، تجمع این فلزات را در جلبک تأیید کرد. این الگو با مکانیسم‌های جذب سطحی و تجمع زیستی توسط گروه‌های عاملی دیواره سلولی (مانند کربوکسیل، آمین و فسفات) سازگار است و با مرورهای گسترده‌تر درباره زیست‌جذب فلزات سنگین توسط جلبک‌ها هم‌خوانی دارد (۱۸، ۱۹، ۲۷). مطالعاتی با استفاده از جلبک‌های دریایی و ریزجلبک‌ها، حذف قابل‌توجهی از کروم، روی و سرب گزارش کردند و زیست‌جذب را مکانیسم غالب دانستند (۱۹). در مطالعه حاضر نیز کاهش هم‌زمان چندین فلز سنگین و تأیید تجمع آن‌ها در زیست‌توده، پتانسیل *C. vulgaris* را برای گیاه‌پالایی فاضلاب‌های آلوده به فلزات تأیید می‌کند. با این‌حال، رسیدن غلظت سرب به حدود ۲ میکروگرم بر لیتر در همه تیمارها و کاهش کروم به حدود ۲ میکروگرم بر لیتر نشان‌دهنده وجود یک حد آستانه برای حذف در این سیستم است؛ این حد می‌تواند به ظرفیت جذب جلبک، شرایط شیمیایی پساب) مانند pH و حضور یون‌های رقیب و زمان تماس مرتبط باشد. وجود فلزات سنگین می‌تواند استفاده از زیست‌توده خشک حاصل از تصفیه پساب را در کود و خوراک دام، با ملاحظاتی همراه کند، در حالیکه تولید سوخت زیستی از ریزجلبک‌ها به‌عنوان جایگزینی بالقوه برای سوخت‌های فسیلی اهمیت دارد، زیرا این ریزجانداران می‌توانند بازده زیست‌توده بالایی داشته باشند و در مقایسه با نسل‌های پیشین سوخت‌های زیستی، ردپای گازهای گلخانه‌ای کمتری ایجاد کنند؛ با این‌حال، نیاز به آب و مواد مغذی و ملاحظات اقتصادی همچنان از چالش‌های تولید پایدار آن‌هاست (۳۰)، بنابراین استفاده از این زیست توده های حاصل از تصفیه پساب می‌تواند در تولید سوخت زیستی امیدبخش باشد.

حسنین و همکاران در مروری جامع نشان دادند که ریزجلبک‌ها و جلبک‌ها می‌توانند طیف وسیعی از آلاینده‌های سمی از جمله فلزات سنگین را از طریق زیست‌جذب و فرآیندهای وابسته حذف کنند و این فناوری برای تصفیه پساب‌های شهری و صنعتی کاربرد دارد (۲۷). نیز بر نقش کلیدی گروه‌های عاملی کربوکسیل و فسفات در زیست‌جذب فلزات توسط *C. vulgaris* تأکید شده‌است (۱۸). نتایج حاضر با این چارچوب نظری سازگار است، اما برای تفکیک دقیق سهم جذب سطحی، تجمع درون‌سلولی و رسوب‌گذاری شیمیایی، به آزمایش‌های تکمیلی مانند طیف‌سنجی، میکروسکوپ و تعادل جذب نیاز است.

افزایش هدایت الکتریکی، جامدات معلق و کدورت با افزایش تراکم جلبک، تا حدی قابل پیش‌بینی بود؛ زیرا افزودن زیست‌توده به‌خودی‌خود بار ذرات معلق و یون‌های محلول را افزایش می‌دهد. در عین حال، افزایش pH در همه تیمارها، به‌ویژه در حضور جلبک، با مصرف دی‌اکسید کربن در طول فتوسنتز و قلیایی‌شدن محیط توجیه می‌شود. عبدل الرئوف و همکاران نیز تأثیر جلبک‌ها بر تغییرات pH ، TSS و کدورت را در سیستم‌های تصفیه فاضلاب گزارش کرده‌اند (۸). در تیمار ۵۰ درصد جلبک، با وجود افزایش TSS ، کدورت رفتار متفاوتی نشان داد و در برخی موارد کاهش یافت که می‌تواند ناشی از تجمع و رسوب بهینه جلبک‌ها، جذب ذرات معلق غیرجلبکی یا مصرف ترکیبات آلی محلول باشد. این پدیده با مشاهدات پیشین درباره تأثیر تراکم جلبک بر پایداری سوسپانسیون و ته‌نشینی زیست‌توده سازگار است (۱۰).

[1] H igh-rate Algal Ponds

کاهش بار کلیفرم‌ها و کلیفرم‌های گرماپای به نزدیک صفر در همه تیمارها، از جمله تیمار شاهد، نشان می‌دهد که هوادهی مداوم، زمان تماس ۱۴ روزه و تغییرات فیزیکوشیمیایی محیط) مانند افزایش pH و تغییر شرایط اکسیژنی نقش مهمی در این کاهش داشته‌اند. بیرد و همکاران روش‌های استاندارد اندازه‌گیری این شاخص‌ها را تشریح کرده‌اند و تأکید می‌کنند که تفسیر نتایج باید با توجه به شرایط نمونه‌برداری و تیمارها انجام شود (۲۸).

به‌تازگی، باهت و همکاران، مکانیسم‌های حذف پاتوژن‌ها توسط *Chlorella pyrenoidosa* را بررسی کردند و نشان دادند که تغییراتpH ، شرایط اکسیژنی و برهم‌کنش‌های جلبک–باکتری می‌توانند بر بقای شاخص‌های میکروبی اثر بگذارند (۲۹). با این حال، در مطالعه حاضر، به دلیل کاهش مشابه بار میکروبی در تیمار شاهد، نمی‌توان کاهش مشاهده‌شده را به‌طور اختصاصی به *C. vulgaris* نسبت داد و نقش مستقل جلبک نیازمند آزمایش‌های کنترل‌شده‌تر با تیمارهای بدون هوادهی و با زیست‌توده غیرفعال است.

تجمع فلزات سنگین در زیست‌توده *C. vulgaris*، استفاده مستقیم از آن به‌عنوان کود زیستی یا خوراک دام را با محدودیت مواجه می‌کند. رنوکا و همکاران، در مروری جامع نشان دادند که ریزجلبک‌ها گزینه‌های چندمنظوره‌ای در کشاورزی مدرن هستند، اما استفاده از زیست‌توده آلوده به فلزات و آلاینده‌ها نیازمند ارزیابی دقیق ایمنی و ترکیب شیمیایی است (۲۲). نیز بر ضرورت غربال‌گری و شناسایی ویژگی‌های ایمنی سویه‌های میکروبی قبل از کاربرد به‌عنوان عوامل کنترل زیستی یا محرک رشد تأکید کردند (۲۳).

سیدو و همکاران نشان دادند که برخی سویه‌های *C. vulgaris* و *Chlamydomonas applanata* می‌توانند رشد گندم را تقویت کرده و خواص خاک را بهبود بخشند و بدین ترتیب به‌عنوان جایگزین بخشی از کودهای شیمیایی عمل کنند (۳۱). این حال، در مورد زیست‌توده حاصل از تصفیه فاضلاب شهری آلوده به فلزات سنگین، احتیاط بیشتری لازم است و پیش از هرگونه کاربرد کشاورزی یا خوراکی، باید غلظت فلزات، پایداری آن‌ها در خاک و احتمال انتقال به زنجیره غذایی به‌دقت ارزیابی شود (۲۲). در مقابل، کاربردهایی مانند استخراج ترکیبات زیستی، تولید سوخت‌های زیستی یا ارزش‌افزایی صنعتی ممکن است الزامات ایمنی متفاوتی داشته باشند و در صورتی که فرآیند استخراج، فلزات را در فاز جامد باقی بگذارد، می‌توانند گزینه‌های مناسب‌تری باشند (۳۰، ۳۲).

نتیجه‌گیری

استفاده از فاضلاب برای کشت جلبک مزایایی از جمله کاهش نیاز به آب شیرین، بازیافت مواد مغذی درون زیست‌توده جلبکی و کاهش هزینه تصفیه فاضلاب دارد، اما چالش‌هایی مانند بهینه‌سازی شرایط تولید جلبک، کنترل آلودگی‌های ثانویه و هزینه برداشت زیست‌توده را نیز به همراه می‌آورد (۳، ۴). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که *C. vulgaris* می‌تواند در حذف هم‌زمان مواد مغذی و فلزات سنگین از فاضلاب شهری مؤثر باشد، اما برای کاربردی‌کردن این فناوری در مقیاس تصفیه‌خانه، بهینه‌سازی نسبت رقت، تراکم جلبک، زمان کشت، شدت هوادهی و روش برداشت زیست‌توده ضروری است.

در این مطالعه، غلظت نیتروژن آمونیاکی، نیترات، فسفات و چهار فلز بررسی‌شده در فاز مایع پساب، پس از ۱۴ روز، کاهش یافت، کاهش شاخص‌های کلیفرمی در تیمار شاهد نیز مشاهده شد و بنابراین نمی‌توان آن را صرفاً به حضور *C. vulgaris* نسبت داد. هم‌چنین شناسایی فلزات در نمونه زیست‌توده خشک نشان می‌دهد که مدیریت زیست‌توده برداشت‌شده باید با احتیاط انجام شود. از آنجا که رشد و بازده نهایی زیست‌توده، موازنه کامل جرم عناصر، ترکیب لیپیدی و ایمنی میکروبی و شیمیایی زیست‌توده اندازه‌گیری نشد، داده‌های حاضر برای نتیجه‌گیری درباره تولید بیودیزل یا کاربرد مستقیم زیست‌توده به‌عنوان کود و خوراک دام کافی نیستند. در مجموع، نتایج نشان‌دهنده ظرفیت اولیه این سامانه برای همراهی با تصفیه فاضلاب است، اما ارزیابی کارایی اختصاصی جلبک و امکان بهره‌برداری نهایی به آزمایش‌های تکمیلی و کنترل‌شده (شامل فاضلاب بدون هوادهی، فاضلاب با هوادهی و بدون جلبک، و فاضلاب با جلبک غیرفعال) نیاز دارد.

تشکر و قدردانی: با سپاس از همکاری شرکت ژرف آب تدبیر، آزمایشگاه آب و فاضلاب اصفهان، دانشگاه شهرکرد.

تعارض منافع: نویسندگان مقاله هیچ‌گونه تعارض منافعی ندارند.

حمایت مالی: این پژوهش از هیچ‌گونه حمایت مالی برخوردار نبوده و با هزینه شخصی پژوهشگران انجام شده است.

ملاحظات اخلاقی: این پژوهش با رعایت اصول و ملاحظات اخلاقی در پژوهش انجام شده است و به دلیل ماهیت مطالعه، نیازی به اخذ کد تأییدیه کمیته اخلاق نداشته است.

سهم نویسندگان: خانم رودابه راوش مسئول طراحی و انجام آزمایش بوده‌اند، خانم فرحناز توکلی در بخش آزمایشگاه فعالیت کرده‌اند و خانم فاطمه رازقی جهرمی به همراه خانم رودابه راوش در آنالیز و نگارش مقاله نقش داشته‌اند.

References

1. Emparan Q, Harun R, Danquah MK. Role of phycoremediation for nutrient removal from wastewaters: A review. Appl Ecol Environ Res 2019; 17(1): 889-915. https://doi.org/10.15666/aeer/1701_889915

2. Li K, Liu Q, Fang F, Luo R, Lu Q, Zhou W, et al. Microalgae-based wastewater treatment for nutrients recovery: A review. Bioresour Technol 2019; 291: 121934. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121934 PMid:31395401

3. Fu F, Wang Q. Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. J Environ Manage 2011; 92(3): 407-18. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.11.011 PMid:21138785

4. Zhou Y, Fu S, Zhang L, Zhan H. Removal of heavy metal ions from wastewater: A comprehensive and critical review. npj Clean Water 2021; 4: 12. https://doi.org/10.1038/s41545-021-00127-0

5. Oswald WJ, Golueke CG. Biological transformation of solar energy. In: Advances in Applied Microbiology. Vol. 2. New York: Academic Press; 1960. p. 223-62. https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70127-8 PMid:13731568

6. Oswald WJ. Light conversion efficiency of algae grown in sewage. Trans Am Soc Civ Eng 1963; 128(3): 47-71. https://doi.org/10.1061/TACEAT.0008899

7. Nwoba EG, Vadiveloo A, Ogbonna CN, Ubi BE, Ogbonna JC, Moheimani NR. Algal cultivation for treating wastewater in African developing countries: A review. CLEAN Soil Air Water 2020; 48(3): 2000052. https://doi.org/10.1002/clen.202000052

8. Abdel-Raouf N, Al-Homaidan AA, Ibraheem IM. Microalgae and wastewater treatment. Saudi J Biol Sci 2012; 19(3): 257-75. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005 PMid:24936135 PMCid:PMC4052567

9. Ding Y, Wang W, Liu X, Song X, Wang Y, Ullman JL. Intensified nitrogen removal of constructed wetland by novel integration of high rate algal pond biotechnology. Bioresour Technol 2016; 219: 757-61. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.044 PMid:27544265

10. Nguyen TDP, Le TVA, Show PL, Nguyen TT, Tran MH, Tran TNT, Lee SY. Bioflocculation formation of microalgae-bacteria in enhancing microalgae harvesting and nutrient removal from wastewater effluent. Bioresour Technol 2019; 272: 34-9. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.146 PMid:30308405

11. Silva DA, Cardoso LG, de Jesus Silva JS, de Souza CO, Lemos PVF, de Almeida PF, et al. Strategy for the cultivation of Chlorella vulgaris with high biomass production and biofuel potential in wastewater from the oil industry. Environ Technol Innov 2022; 25: 102204. https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.102204

12. Asadi P, Rad HA, Qaderi F. Lipid and biodiesel production by cultivation isolated strain Chlorella sorokiniana pa. 91 and Chlorella vulgaris in dairy wastewater treatment plant effluents. J Environ Health Sci Eng 2020; 18: 573-85. https://doi.org/10.1007/s40201-020-00483-y PMid:33312584 PMCid:PMC7721930

13. Wang L, Li Y, Chen P, Min M, Chen Y, Zhu J, Ruan RR. Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae Chlorella sp. Bioresour Technol 2010; 101(8): 2623-8. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.062 PMid:19932957

14. Xia C, Van Le Q, Chinnathambi A, Salmen SH, Alharbi SA, Tola S. Role of ZnO and Fe2O3 nanoparticle on synthetic saline wastewater on growth, nutrient removal and lipid content of Chlorella vulgaris for sustainable production of biofuel. Fuel 2021; 300: 120924. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.120924

15. Azizi S, Bayat B, Tayebati H, Hashemi A, Pajoum Shariati F. Nitrate and phosphate removal from treated wastewater by Chlorella vulgaris under various light regimes within membrane flat plate photobioreactor. Environ Prog Sustain Energy 2021; 40(2): e13519. https://doi.org/10.1002/ep.13519

16. Pooja K, Priyanka V, Rao BCS, Raghavender V. Cost-effective treatment of sewage wastewater using microalgae Chlorella vulgaris and its application as bio-fertilizer. Energy Nexus 2022; 7: 100122. https://doi.org/10.1016/j.nexus.2022.100122

17. Fazal T, Rehman MSU, Javed F, Akhtar M, Mushtaq A, Hafeez A, et al. Integrating bioremediation of textile wastewater with biodiesel production using microalgae (Chlorella vulgaris). Chemosphere 2021; 281: 130758. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130758 PMid:34000658

18. Parmar KS, Patel KM. Biosorption and bioremediation of heavy metal ions from wastewater using algae: A comprehensive review. World J Microbiol Biotechnol 2025; 41(7): 262. https://doi.org/10.1007/s11274-025-04424-5 PMid:40640643

19. Znad H, Awual MR, Martini S. The utilization of algae and seaweed biomass for bioremediation of heavy metal-contaminated wastewater. Molecules 2022; 27(4): 1275. https://doi.org/10.3390/molecules27041275 PMid:35209061 PMCid:PMC8876972

20. Khalaji M, Hosseini SA, Ghorbani R, Agh N, Rezaei H, Kornaros M, Koutra E. Treatment of dairy wastewater by microalgae Chlorella vulgaris for biofuels production. Biomass Convers Biorefin 2021; 1-7. https://doi.org/10.1007/s13399-021-01287-2

21. Leong WH, Saman NAM, Kiatkittipong W, Assabumrungrat S, Najdanovic-Visak V, Wang J, et al. Photoperiod-induced mixotrophic metabolism in Chlorella vulgaris for high biomass and lipid to biodiesel productions using municipal wastewater medium. Fuel 2022; 313: 123052. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.123052

22. Renuka N, Guldhe A, Prasanna R, Singh P, Bux F. Microalgae as multi-functional options in modern agriculture: Current trends, prospects and challenges. Biotechnol Adv 2018; 36(4): 1255-73 https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.04.004 PMid:29673972

23. Pirttilä AM, Mohammad Parast Tabas H, Baruah N, Koskimäki JJ. Biofertilizers and biocontrol agents for agriculture: How to identify and develop new potent microbial strains and traits. Microorganisms 2021; 9(4): 817.

https://doi.org/10.3390/microorganisms9040817 PMid:33924411 PMCid:PMC8069042

24. Liao IC, Huang TL. Experiments on the propagation and culture of prawns in Taiwan. Proceedings of the 14th Session of the Indo-Pacific Fisheries Council; 1970. p. 1-26.

25. Gao F, Li C, Yang ZH, Zeng GM, Mu J, Liu M, Cui W. Removal of nutrients, organic matter, and metal from domestic secondary effluent through microalgae cultivation in a membrane photobioreactor. J Chem Technol Biotechnol 2016; 91(10): 2713-9. https://doi.org/10.1002/jctb.4879

26. Ayatollahi SZ, Esmaeilzadeh F, Mowla D. Integrated CO2 capture, nutrients removal and biodiesel production using Chlorella vulgaris. J Environ Chem Eng 2021; 9(2): 104763. https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104763

27. Hasnain M, Zainab R, Ali F, Abideen Z. An overview of biosorption, remediation, and desalination potential of algae to remove wastewater toxic pollutants for environmental safety. Environ Monit Assess 2025; 197(8): 853. https://doi.org/10.1007/s10661-025-14279-w PMid:40610645

28. Baird RB, Eaton AD, Rice EW, Bridgewater LL, editors. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 23rd ed. Washington, DC: American Public Health Association; 2017.

29. Bhatt A, Arora P, Prajapati SK. Unveiling mechanistic intricacies of Chlorella pyrenoidosa-mediated pathogen removal from sewage. npj Clean Water 2024; 7: 116. https://doi.org/10.1038/s41545-024-00411-9

30. Callegari A, Bolognesi S, Cecconet D, Capodaglio AG. Production technologies, current role, and future prospects of biofuels

feedstocks: A state-of-the-art review. Crit Rev Environ Sci Technol 2020; 50(4): 384-436. https://doi.org/10.1080/10643389.2019.1629801

31. Sido MY, Tian Y, Wang X, Wang X. Application of microalgae Chlamydomonas applanata M9V and Chlorella vulgaris S3 for wheat growth promotion and as urea alternatives. Front Microbiol 2022; 13: 1035791. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1035791 PMid:36523822 PMCid:PMC9746238

32. Pandey A, Ahmad S, Kothari R, Pathak VV, Tyagi VV. Biorefinery: A future approach for a sustainable bioeconomy. In: Algal Biofuel. Boca Raton: CRC Press; 2022. p. 1-22. https://doi.org/10.1201/9781003363231-1