



ORIGINAL ARTICLE

Received:2018/12/10

Accepted:2019/02/14

**Advanced Treatment of Meat Processing Wastewaters Using Microalgae**

**Soroosh Danaee (Ph.D.)<sup>1</sup>, Seyed Mohammad Heydarian (Ph.D.)<sup>2</sup>, Hamideh Ofoghi (Ph.D.)<sup>3</sup>,  
Abbas Farazmand (Ph.D.)<sup>4</sup>**

1.PhD Student of Chemical Engineering, Biotechnology Department, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran.

2.Associate Professor, Biotechnology Department, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran.

3.Corresponding Author: Associate Professor, Biotechnology Department, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran. Email:ofoghi@irost.ir Tel: 09121488699

4.Assistant Professor, Biotechnology Department, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran.

**Abstract**

**Introduction:** Effluents of Meat processing are one of the untreated wastewaters containing high volumes of polluted components even after the primary and secondary treatments. The high cost of using the advanced treatment methods of the wastewaters has led the industry owners to release them in the nature without effective removal of nitrogen and phosphorus. In this study, an economic advanced method was presented for the first time for the treatment of meat processing effluents by producing valuable biomass.

**Methods:** The recovery of wastewater components was studied for the growth of two profitable strains of *Chlorella* and *Scenedesmus* in three variations: real wastewater, normalized wastewater, and normalized wastewater with trace elements. The concentration of nitrate, ammonia, and phosphate was analyzed during the growth period.

**Results:** Experimental data showed that normalized wastewater increased biological removal up to %78 in *Scenedesmus* and 64% in *Chlorella*. In addition, normalized wastewater containing trace elements increased biological removal up to %93 in *Scenedesmus* and 95% in *Chlorella*. The addition of phosphates reduced pH fluctuations and worked as a buffer.

**Conclusion:** The meat wastewaters processing can provide a rich culture medium for cultivation of microalgae. The results of this research can present a novel promising and economic alternative way to remove nutrient pollutions in meat wastewaters processing.

**Keywords:** Meat Processing Wastewater, Microalgae, Advanced treatment, Removal of pollutions.

**Conflict of interest:** The authors declared no conflict of interest



**This Paper Should be Cited as:**

Author : Soroosh Danaee, Seyed Mohammad Heydarian, Hamideh Ofoghi, Abbas Farazmand. Evaluation of Advanced Wastewater Treatment of Meat Processing Industry Using Microalgae.....Tolooebehdasht Journal.2019;18(2):23-36.[Persian]



## ارزیابی تصفیه تکمیلی پساب صنایع فراوری گوشت با استفاده از کشت ریز جلبک

نویسندگان: سروش دانایی<sup>۱</sup>، سیدمحمد حیدریان<sup>۲</sup>، حمیده افقی<sup>۳</sup>، عباس فرازمنند<sup>۴</sup>

۱. دانشجوی دکتری مهندسی شیمی، پژوهشکده زیست فناوری، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران.

۲. دانشیار پژوهشکده زیست فناوری، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران.

۳. نویسنده مسئول: دانشیار پژوهشکده زیست فناوری، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران.

تلفن تماس: ۰۹۱۲۱۴۸۸۶۹۹ Email: ofoghi@irost.ir

۴. استادیار پژوهشکده زیست فناوری، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران.

### چکیده

**مقدمه:** یکی از پساب‌هایی که پس از طی فرآیندهای تصفیه اولیه و ثانویه، هم‌چنان حاوی درصد‌های زیادی از آلوده‌کننده‌ها است، پساب صنایع فراوری گوشت می‌باشد. هزینه زیاد سیستم‌های تصفیه تکمیلی، سبب شده است که این نوع پساب‌ها بدون حذف آلاینده‌های نیتروژن دار و فسفر دار به محیط زیست وارد شوند. در این مقاله، راهکاری اقتصادی به منظور تصفیه تکمیلی پساب صنایع فراوری گوشت همراه با تولید زیست توده با ارزش ارائه شده است.

**روش بررسی:** این مطالعه از نوع کاربردی است. دو گونه ریزجلبک کلرلا و سندسموس در سه محیط پساب سنتزی واقعی، پساب نرمال شده و پساب نرمال شده حاوی ترکیبات ریزمغذی، کشت و حذف زیستی ترکیبات پساب بررسی شد. غلظت نیترات، آمونیاک و فسفات موجود در پساب در طول مدت کشت آنالیز شد. از بافرهای فسفات نیز برای کاهش نوسانات pH استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد افزایش فسفات در پساب، موجب افزایش حذف زیستی بیشینه ۷۸٪ در سندسموس و ۶۴٪ در کلرلا شد. این در حالی است که افزودن محلول ریزمغذی منجر به حذف زیستی بیشینه ۹۳٪ در سندسموس و ۹۵٪ در کلرلا شد.

**نتیجه گیری:** پساب صنایع فراوری گوشت می‌تواند محیطی مناسبی برای رشد ریزجلبک فراهم نماید. نتایج این تحقیق می‌تواند نویدبخش راهکاری جدید و اقتصادی به منظور حذف کامل ترکیبات آلاینده نیتروژن دار و فسفر دار موجود در پساب‌های فراوری گوشت باشد.

**واژه‌های کلیدی:** پساب فراوری گوشت، ریزجلبک، تصفیه تکمیلی، آلاینده نیتروژن دار.

## طلوع بهداشت

دو ماهنامه علمی پژوهشی

دانشکده بهداشت یزد

سال هیجدهم

شماره دوم

خرداد و تیر ۱۳۹۸

شماره مسلسل: ۷۴

تاریخ وصول: ۱۳۹۷/۰۹/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۲۵



## مقدمه

برخی از پساب ها، پس از طی فرآیندهای تصفیه اولیه و ثانویه، همچنان حاوی درصدهای زیادی از آلوده کننده ها هستند که ممکن است موجب پدیده ی غنی شدن (Eutrophication) شوند و حیات انسان ها و موجودات زنده درون آب های سطحی را به خطر بیندازند (۱). پساب صنایع فراوری گوشت از جمله این پساب ها می باشد که به دلیل استفاده بیش از اندازه از ترکیبات نیتروژن دار در طول فرآیند تولید، سطح آلایندهای بیشتر از استاندارد دارد (۲). فرآیندهای تصفیه تکمیلی، برای حذف این ترکیبات از پساب، توسعه یافتند. این فرآیندها عموماً شامل فیلتراسیون، استفاده از تالاب مصنوعی (Constructed wetland)، حذف مواد مغذی، اسمز معکوس و گندزدایی می شود. روش های مختلفی نظیر رسوب دهی برای حذف مواد مغذی وجود دارد اما روش تصفیه بیولوژیکی به دلیل راندمان بالا و هزینه کم، امروزه یکی از مهم ترین بخش های تصفیه فضلاب شهری و صنعتی می باشد. به منظور حذف ترکیبات نیتروژن دار، از فرآیندهای نیتریفیکاسیون اتوتروفیک و دنیتریفیکاسیون هتروتروفیک به طور گسترده ای استفاده می شود (۳،۴). نیتروژن موجود در پساب توسط دو فرآیند فوق به شکل گاز نیتروژن به جو وارد می شود. از جمله معایب فرآیند دنیتریفیکاسیون، دو محصول واسطه ای سمی  $N_2O$  و  $NO$  است که به صورت گاز منتشر می گردند. همچنین، دو فرآیند فوق باید به صورت جدا از هم انجام گیرند زیرا فرآیند اول توسط باکتری های اتوتروف تحت شرایط هوازی و دنیتریفیکاسیون باید در محیط عاری از اکسیژن انجام شود. در کنار مصرف حجم

زیادی از اکسیژن در طی فرآیندهای فوق و نیاز به کربن آلی،

هزینه و انرژی سیستم تصفیه نیز افزایش خواهد یافت (۴).

احیاء بیولوژیکی فسفر نیز از طریق باکتری های ذخیره کننده فسفر (PAOs) که قادرند مقادیر بالای فسفر را درون سلول های خود ذخیره کنند صورت می گیرد (۵،۳). هرچند این فرآیند در حذف فسفر موثر است اما در عمل بازده حذف فسفر متغیر و ناپایدار است و در نهایت لجن غنی از فسفر برجای می گذارد که دفع آن، معضل جدیدی به شمار می آید (۴).

استفاده از ریزجلبک ها برای تصفیه پساب های شهری و صنعتی تاکنون موضوع مطالعات بسیاری از محققین قرار گرفته است. کاربرد ریزجلبک در تصفیه پساب براساس اصول اکوسیستم طبیعی نباشده، در نتیجه از نظر زیست محیطی مضر نیستند. همچنین ریزجلبک، قابلیت بازافت مناسب مواد مغذی از پساب را دارد و در صورت باز مصرف توده زیستی تولیدی، هیچ گونه آلودگی ثانویه ای ایجاد نگردیده و ارزش افزوده زیادی نیز دارد (۶،۷). کشت جلبک در پساب علاوه بر جذب ترکیبات مغذی برای تولید بیومس و جذب فلزات سنگین با تولید اکسیژن ارزان قیمت که عامل ایجاد شرایط هوازی می باشد، همراه است. هم چنین بالا رفتن pH و غلظت اکسیژن در طول متابولیسم فتواتوتروفیک جلبک، عامل گندزدایی غیرمستقیم ویروس ها و باکتری ها است. بنابراین، این فرآیند می تواند گزینه ای مناسب برای جایگزینی فرآیندهای متداول چند مرحله ای باشد (۴).

کشت ریزجلبک در پساب صنایع فراوری گوشت تنها یکبار به منظور تصفیه ثانویه مطالعه شده است (۸) اما تصفیه تکمیلی این نوع پساب، تاکنون بررسی نشده است. هدف پژوهش



ریزجلبک *Chlorella* و *Scenedesmus quadriquadra vulgaris* از (۱۲،۱۳) به صورت کشت زنده تهیه شد و به منظور تهیه مایه تلقیح، در محیط کشت BBM، تحت دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، شدت نور ۲۰۰۰ لوکس، سرعت هم زدن ۱۲۰ دور بر دقیقه و دوره نوری ۱۶:۸ به مدت تقریبی ۱۰ روز کشت داده شد. سلول‌های رشد یافته، دو بار سانتریفوژ (دور ۶۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه)، شستشو و به مقدار ۱۰ درصد در پساب‌ها تلقیح شدند. برای هر آزمایش، سه تکرار در نظر گرفته شد.

بررسی عملکرد ریزجلبک‌ها در حذف پساب در طول مدت کشت، صورت گرفت. برای این منظور، غلظت آمونیوم، نترات و فسفات به روش استاندارد آنالیز آب و پساب (به ترتیب استانداردهای 4500-P D، 4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> B، 4500-NH<sub>3</sub> C) اندازه گیری شد (۱۴). مقدار وزن زیست توده نهایی ریزجلبک به صورت خشک، پس از نمونه گیری و جداسازی زیست توده، در دمای ۶۰°C به مدت یک شبانه روز خشک و سپس توزین شد.

#### یافته‌ها

حذف زیستی پساب سنتزی با استفاده از ریزجلبک *Scenedesmus quadriquadra* به منظور بررسی توانایی ریزجلبک *S. quadriquadra* در جذب آمونیوم، نترات و فسفات موجود در پساب، این ریزجلبک به پساب سنتزی واحد فراوری گوشت تلقیح شد. نتایج حاصل از حذف ترکیبات انواع پساب در شکل ۱ ارائه شده است. با توجه به غلظت فسفات موجود در پساب واقعی که در محدوده آنالیز نبود، نمودار شکل ۱A تنها تغییرات سه متغیر آمونیوم، نترات و pH طی ۱۷ روز کشت را ارائه می کند. پس از طی مدت

حاضر، بررسی پارامترهای موثر در حذف آلاینده های پساب صنایع فرآوری گوشت همراه با تولید زیست توده با ارزش است.

#### روش بررسی

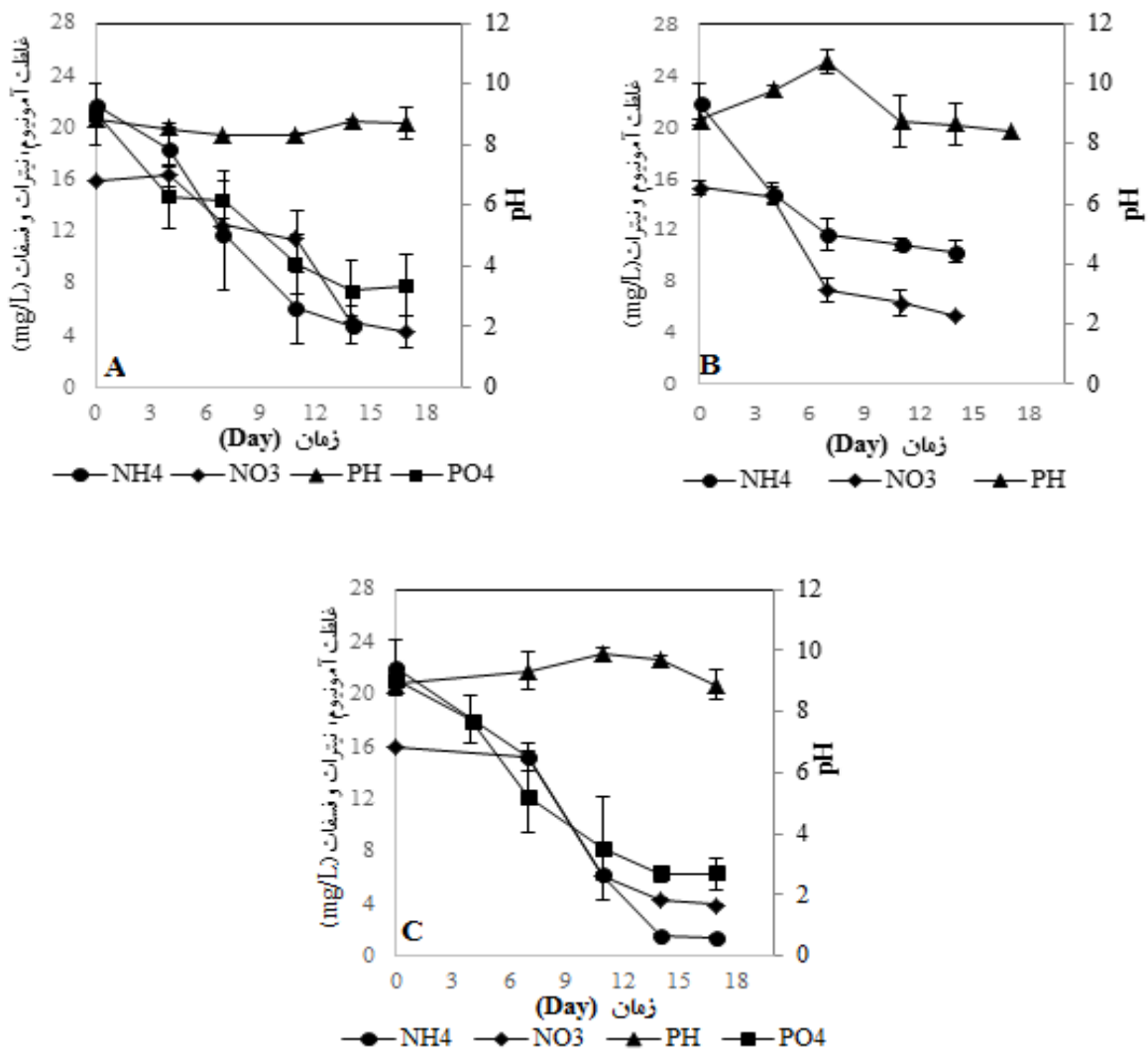
این مطالعه از نوع کاربردی است. غلظت ترکیبات محیط کشت بر اساس پساب خروجی یک واحد صنعتی مستقر در تهران مدل سازی گردید. برای این منظور در سه دوره زمانی (تابستان، پاییز و زمستان ۱۳۹۶) و هر بار دو نمونه از پساب خروجی این واحد نمونه برداری شد و توسط آزمایشگاه مرجع آب و فاضلاب استان تهران آنالیز شد. پساب سنتزی با ترکیب اجزای زیر ساخته شد و در آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت (میلی گرم در لیتر): ۷۳/۹۳ منیزیم سولفات؛ ۲۱/۹۳۴ سدیم نترات؛ ۳۲۱/۰۳۹ سدیم کربنات؛ ۲۶۲/۵ کلسیم کربنات؛ ۶۸/۳ آمونیوم کلراید؛ ۰/۳۴ پتاسیم دی هیدروژن فسفات؛ ۰/۲۲۶ دی پتاسیم هیدروژن فسفات. در ساخت پساب سنتزی از کربن آلی استفاده نشد تا رشد باکتری ها محدود شود (۹). تمامی نمک‌های مورد استفاده برای ساخت محیط کشت، با خلوص آزمایشگاهی از شرکت سیگما تهیه شدند.

آزمایش‌های کشت ریزجلبک در پساب با سه نمونه سنتزی انجام شدند. دسته اول با استفاده از اجزای پساب واقعی انجام شد ((Wastewater-Real(WR))، دسته دوم با افزایش سطح فسفات در پساب به منظور تغییر نسبت نیتروژن به فسفر (N/P) با نسبت Redfield (۱۰) صورت گرفت ((Wastewater-Real-Trace(WRT)) و دسته سوم، با افزودن عناصر ریزمغذی (Normalized(WN)) موجود در محیط کشت BBM به پساب قبل انجام شد ((Wastewater-Real-Trace(WRT)) و (Wastewater- Normalized- Trace (WNT)) (۱۱). دو

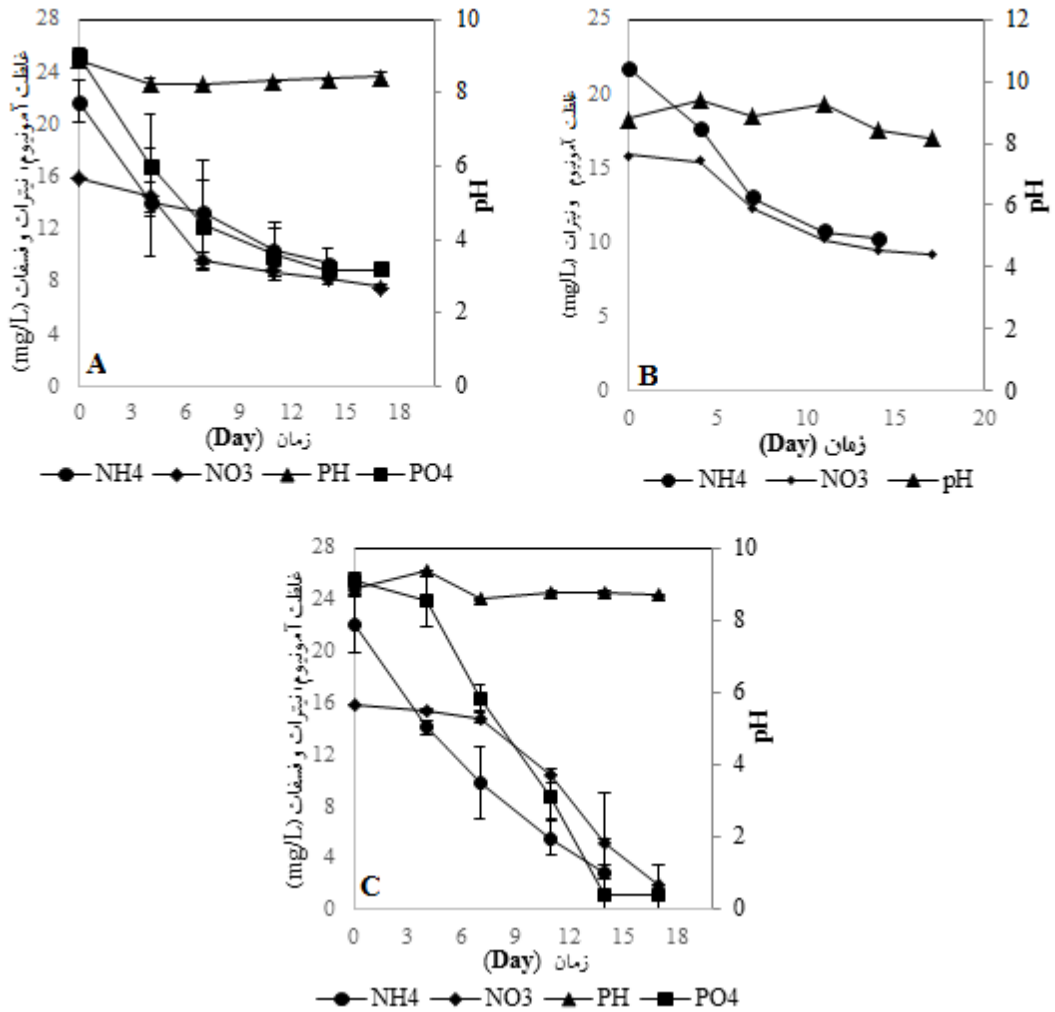


زیستی، نسبت N/P بهینه‌سازی گردید و با افزودن فسفات، این نسبت در پساب تا عدد ۱۶ غنی شد (WNS) که نتایج مثبت این تغییر در شکل ۱B نشان داده شده است. در این آزمایش، غلظت منابع نیتروژنی تغییری نداشته است اما غلظت فسفات تا ۹mg/L افزایش یافته است.

کشت، درصد حذف آمونیم و نترات به ترتیب ۵۳٪ و ۶۷٪ بدست آمد. همانطور که در شکل ۱ مشاهده می شود، نوسان pH در طی فرایند زیاد است و در برخی از روزهای آزمایش، تا ۱۰/۷ افزایش یافته است. به منظور افزایش حذف زیستی و به نسبت آن افزایش توده



شکل ۱: تغییرات پارامترهای مختلف (A) پساب واقعی (WRS)؛ (B) پساب غنی شده (WNS) و (C) پساب غنی شده همراه با ریزمغذی (WNTS)



شکل ۲: روند تغییر پارامترها در طول کشت ریزجلبک کلرلا (A) پساب واقعی (WRC)؛ (B) پساب غنی شده (WNC) و (C) پساب غنی شده همراه با ریزمغذی (WNTC)

حذف زیستی پساب با استفاده از ریزجلبک *Chlorella vulgaris* نتایج حاصل از حذف ترکیبات انواع پساب در شکل ۲ ارائه شده است. عملکرد سویه *C. vulgaris* در پساب سنتزی واقعی (WRC) در حذف آمونیوم، نیترات و نیز تغییر در pH در شکل ۲A نشان داده شده است. بر اساس نتایج حاصل، درصد حذف آمونیوم و نیترات به ترتیب ۵۳٪ و ۴۲٪ بدست آمد. در ادامه، به منظور افزایش بازده تصفیه، نسبت N/P تا ۱۶ با افزودن فسفات

شکل ۱C نشان دهنده نتایج کشت سندسموس در پساب سنتزی غنی شده است که محلول ریزمغذی نیز به آن افزوده شده است (WNTS). همان گونه که از نمودار مشخص است این تغییر تأثیر قابل توجهی در درصد و سرعت حذف زیستی داشته به طوری که درصد و سرعت حذف زیستی آمونیوم تا ۹۳٪ و ۱/۹mg/L.day، درصد و سرعت حذف زیستی نیترات تا ۷۶٪ و ۱/۱mg/L.day و درصد و سرعت حذف زیستی فسفات تا ۷۰٪ و ۰/۵۵mg/L.day افزایش نشان می دهد.



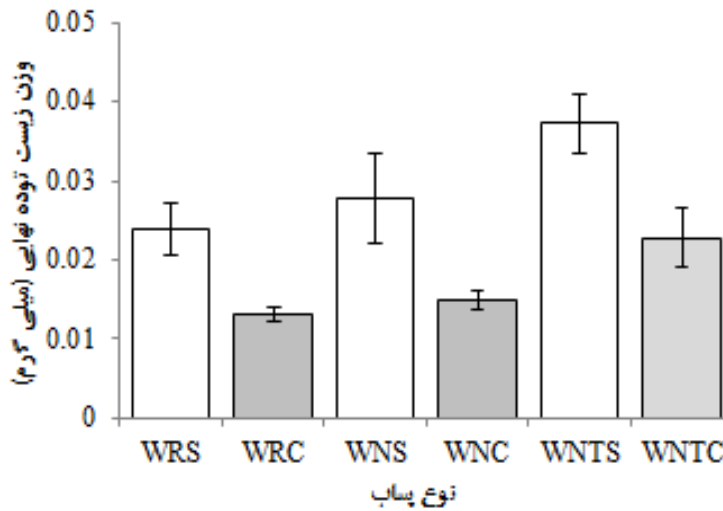
درصد حذف آمونیوم، نیترات و فسفات به ترتیب ۹۳٪، ۸۸٪ و ۹۵٪ حاصل شده است.

شکل ۳ نتایج زیست توده نهایی را برای هر دو گونه ریزجلبک ارائه می کند.

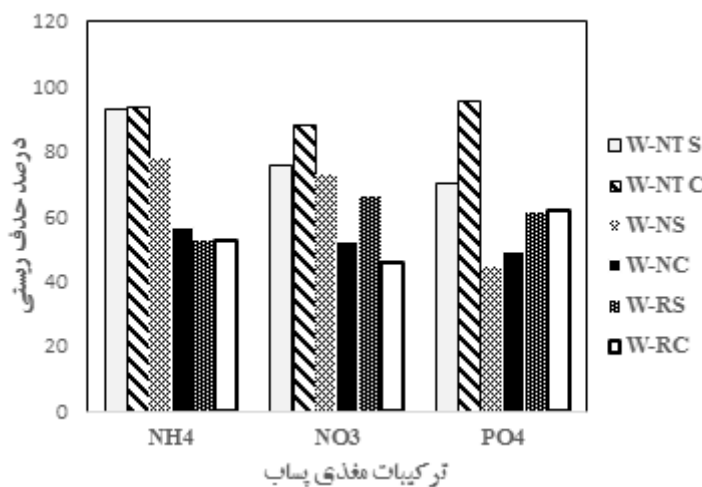
بیشترین زیست توده نهایی برای هر دو سویه ریزجلبک، در آزمایش پساب غنی شده همراه با ریزمغذی بدست آمد (WNTC و WNTS).

کاهش یافت (WNC). با این تغییر در پساب، درصد حذف این سه ترکیب تا ۵۶٪، ۵۲٪ و ۶۴٪ افزایش را نشان داد که این تغییر در شکل ۲B مشاهده می شود.

افزودن ریزمغذی در این ریزجلبک (WNTC)، باعث بهبود عملکرد تصفیه پساب و افزایش زیست توده بوده به طوری که در شکل ۲C نشان داده شده است در مقایسه با دو آزمایش دیگر سرعت و میزان حذف زیستی هر سه ترکیب افزایش یافته و



شکل ۳: وزن نهایی زیست توده خشک در ریزجلبک *C. vulgaris* و *S. quadricauda* در انواع پساب



شکل ۴: درصد حذف زیستی آمونیوم، فسفات و نیترات در شرایط آزمایشی متفاوت به وسیله‌ی دو ریزجلبک *C. vulgaris* و *S. quadricauda*

جدول ۱: مقایسه درصد حذف آلاینده های نیتروژن دار و فسفردار با دو ریزجلبک *S. quadricauda* و *C. vulgaris*

مرجع	زمان (روز)	نسبت نیتروژن به فسفر	حذف (%)	غلظت (mg/L)	ماده آلاینده	غلظت سلول نهایی (g/L)	سویه مورد استفاده	شرایط آزمایش
(۲۴)	۵	۵۰/۸	۸۰ ۹۰	۲/۵ ۳۰	Phosphate NH <sub>3</sub>	۰/۶	Scenedesmu s	پساب صنعتی
(۲۵)	۴	۱۰	۳۰ ۳۴ ۸۹	۶/۸ ۴۴ ۴	Phosphate NO <sub>3</sub> TP		Scenedesmu s	پساب صنعتی
(۲۶)	۱۰	۵۵/۵	۱۰۰	۰/۴ ۲۱/۸ ۶/۵	TP NO <sub>3</sub> NH <sub>3</sub>	۰/۷۴	Scenedesmu s	پساب خروجی تصفیه خانه فاضلاب شهری
(۲۷)	۶	۰/۳	۶۸ ۲۵	۸/۹ ۵۵	NO <sub>3</sub> Phosphate		Scenedesmu s	پساب خروجی تصفیه خانه فاضلاب شهری
تحقیق حاضر	۱۷	۱۶	۹۳ ۷۶ ۷۰	۲۲ ۱۵/۹ ۹/۱	NH <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> Phosphate	۱/۱	Scenedesmu s	WNTS
(۲۸)	۴	۳/۱	۹۷ ۹۶ ۱۵ ۹۵	۲۱ ۳/۹ ۲۰۰ ۵/۳	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> TP NO <sub>3</sub> Phosphate	۰/۸	Chlorella	پساب سنتزی
(۲۹)	۹	۱۲/۱	۶۰ ۲۱ ۹۹	۵۰ ۱۴ ۴۰	Phosphate TN NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>		Chlorella	پساب سنتزی تصفیه خانه فاضلاب شهری
(۱۶)	۱۲	۴-۶	۸۶ ۸۸	۱۴۳ ۱۳/۱	TP NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	۲/۱	Chlorella	پساب صنعتی (غنی شده)
تحقیق حاضر	۱۷	۱۶	۹۳/۵ ۸۸ ۹۶	۲۲ ۱۵/۹ ۹/۱	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> TP NO <sub>3</sub>	۰/۷	Chlorella	WNTC

## بحث و نتیجه گیری

آمونیم با استفاده از ریزجلبک *S. quadricauda* بوده است که ۳۲٪ افزایش نسبت به پساب سنتزی واقعی داشته و پس از آن فسفات با ۱۵٪ و آمونیم ۸٪ افزایش را دارا بود. همچنین پس از این تغییر در پساب، زیست توده نهایی ۱۳٪ رشد داشت. در تحقیق مشابهی که بر روی ریزجلبک *S. quadricauda* انجام گرفت، با افزایش غلظت فسفات (کاهش نسبت N/P از ۲۰:۱ به

تأثیر نسبت N/P در حذف زیستی از پساب نتایج بدست آمده از آزمایشات بیانگر این است که اثر کاهش نسبت N/P در حذف زیستی و تولید زیست توده، مطلوب است به طوری که پس از کاهش این متغیر، هر دو پارامتر افزایش یافته اند. با کاهش این نسبت بیشترین تأثیر بر روی حذف زیستی





در مطالعه‌ی که در خصوص *S. quadricauda* انجام شد بیشترین زیست توده تولیدی در حضور منبع نیتروژن و *BBM* گزارش شد (۱۸). در تحقیق دیگر بر روی این سویه، بیشترین دانسیته اندازه‌گیری شده در زمان افزودن ریزمغذی *BBM* بوده است (۱۹). دلیل این امر تأثیر مثبت ریزمغذی *BBM* در تولید کلروفیل می‌باشد (۱۱، ۲۰)، به گونه‌ای که در گزارشی که مربوط به پساب رنگی است، مشاهده گردید که بیشترین میزان کلروفیل تولید در حضور *BBM* حاصل شده است (۲۰). به همین دلیل است که افزودن ریزمغذی به پساب سنتزی باعث افزایش حذف زیستی آمونیم، نترات و فسفات گردید. همچنین میزان زیست توده تولیدی به همین نسبت افزایش یافت. بر اساس شکل (۳) زیست توده تولیدی *S. quadricauda* و *C. vulgaris* به ترتیب ۴۱٪ و ۳۵٪ نسبت به پساب واقعی و ۳۴٪ و ۲۵٪ نسبت به پساب حاوی *N/P* غنی شده، افزایش نشان می‌دهد.

درصد حذف زیستی آمونیم، نترات و فسفات در پساب *WNTS* نسبت به *WNS* به ترتیب ۱۶٪، ۲٪ و ۱۰٪ افزایش داشته است اما این تغییر در ریزجلبک *C. vulgaris* بیشتر بوده به طوری که درصد حذف این سه ترکیب در پساب *WNTC* نسبت به *WNC*، ۴۰، ۴۱ و ۳۳٪ رشد نشان می‌دهد. می‌توان نتیجه گرفت که ریزمغذی بیشترین تأثیر را بر روی سویه *C. vulgaris* داشته است. در سال ۲۰۰۷، مطالعه‌ی درباره ریزجلبک *C. vulgaris* صورت گرفت که نشان داد افزودن محلول ریزمغذی حاوی (Cu, Fe, Zn, ...) باعث افزایش میزان کلروفیل و توده سلولی گردیده است (۱۱).

۸:۱)، میزان زیست توده افزایش یافت و افزایش ۶۰ درصدی در میزان حذف زیستی *TN* گزارش شد (۱۵).

همچنین برای ریزجلبک *C. vulgaris*، بررسی تغییرات صورت گرفته تحت تأثیر کاهش نسبت *N/P* نشان داد، اثر این تغییرات کمتر است. به این ترتیب درصد حذف آمونیم، نترات و فسفات نسبت به پساب سنتزی واقعی ۷٪، ۱۹٪ و ۱۶٪ افزایش نشان داده و زیست توده نهایی رشد ۲۴٪ داشته است. همچنین، بر خلاف ریزجلبک *S. quadricauda*، بیشترین افزایش مربوط به نترات بوده است. در تحقیق مشابهی که بر روی سویه *C. vulgaris* انجام گرفته سرعت حذف زیستی آمونیم و فسفات و همچنین میزان زیست توده نهایی در پساب با تغییر نسبت *N/P* و رشد داشته است به طوری که بیشترین میزان حذف زیست توده تولیدی در نسبت *N/P* برابر با ۱۲ گزارش شده است (۱۶). بعلاوه، افزایش منبع نیتروژن و فسفر نیز باعث افزایش رشد زیست توده می‌گردد و زمانی که این نسبت بهینه شود، سرعت رشد و میزان حذف زیستی افزایش می‌یابد (۹، ۱۶). از این رو است که این تغییر نتیجه مثبتی در هر دو ریزجلبک بر روی میزان زیست توده نهایی داشته است. بررسی نمودارهای *pH* نشان می‌دهد افزایش فسفات موجب کاهش تغییرات نسبت به پساب سنتزی واقعی بوده است زیرا نمک‌های بکار رفته برای افزایش فسفات ( $K_2HPO_4$  و  $KH_2PO_4$ ) دارای خاصیت بافری بوده (۱۷) و این خود عامل مساعدی برای رشد ریزجلبک است.

تأثیر افزودن ریزمغذی در حذف زیستی پساب

در این تحقیق افزودن محلول ریزمغذی، تأثیر مثبتی بر روی حذف زیستی پساب و افزایش زیست توده داشت.



ترجیحی منع نیتروژن در این دو ریزجلبک می‌باشد. به‌طور مشابه، در تحقیقی دیگر سرعت حذف زیستی آمونیوم توسط سویه *C. vulgaris* بیشتر از نیترات بوده است (۲۱). همچنین در تحقیق که در سال ۲۰۱۳ انجام شده، مشخص شد فرم مناسب منبع نیتروژن به‌منظور کشت ریزجلبک *S. quadricauda*، آمونیوم می‌باشد (۲۲). بررسی تحقیقات دیگر نشان می‌دهد در حذف پساب به‌وسیله ریزجلبک *C. vulgaris* مشابه تحقیق حاضر، در روزهای نخست غلظت نیترات تغییرات اندکی داشته است (۱۶). در مطالعه‌ی دیگر بر روی سویه *S. quadricauda* سرعت حذف آمونیوم بیشتر از نیترات بوده و پس از یک تا پنج روز از کشت، تغییرات اندکی در خصوص غلظت نیترات گزارش شده است (۲۳).

نتایج کشت سویه *S. quadricauda* نشان داد که حذف زیستی آمونیوم، نیترات و فسفات به ترتیب  $۷۸\%$ ،  $۷۳\%$  و  $۶۲\%$  افزایش یافت. تغییر در فسفات بر روی سرعت حذف زیستی پساب تأثیر مثبتی داشته است به گونه‌ی که سرعت حذف زیستی آمونیوم از  $۱ \text{ mg/L.day}$  به  $۱/۴ \text{ mg/L.day}$  و سرعت حذف زیستی فسفات از  $۰/۴ \text{ mg/L.day}$  به  $۰/۵ \text{ mg/L.day}$  افزایش یافت ولی سرعت حذف نیترات تغییر چندانی نداشت. همچنین در طول مدت کشت، pH تغییرات اندکی داشته است. به‌طور مشابه، سرعت حذف زیستی آمونیوم، نیترات و فسفات کشت سویه *C. vulgaris* در WRC به ترتیب  $\text{mg/L.day}$   $۱$ ،  $۰/۵ \text{ mg/L.day}$  و  $۰/۴ \text{ mg/L.day}$  اندازه‌گیری شد که پس از افزودن فسفات در جهت کاهش نسبت N/P، سرعت حذف این سه ترکیب به ترتیب  $۱/۰۲ \text{ mg/L.day}$ ،  $۰/۵۴ \text{ mg/L.day}$  و  $۰/۴۹$  بدست آمد. افزودن محلول ریزمغذی تأثیر مثبتی در

با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان نتیجه گرفت که محلول ریزمغذی در افزایش توده زیستی نهایی و متعاقباً حذف زیستی پساب بخصوص نیترات مناسب می‌باشد.

مقایسه دو ریزجلبک *Chlorella vulgaris* و *Scenedesmus quadricauda*

شکل ۴ نشان‌دهنده‌ی میزان حذف زیستی و زیست توده نهایی دو ریزجلبک مورد تحقیق می‌باشد. در پساب سنتزی واقعی (WR)، عملکرد هر دو ریزجلبک در حذف زیستی آمونیوم و فسفات، تقریباً یکسان بوده است اما در حذف نیترات و زیست توده نهایی ریزجلبک *S. quadricauda* بهتر بوده است.

پس از بهینه‌سازی نسبت نیتروژن به فسفر در پساب WN، درصد حذف آمونیوم و نیترات در حضور ریزجلبک *S. quadricauda* بیشترین افزایش را نسبت به ریزجلبک دیگر داشت. همچنین این رشد در زیست توده نهایی نیز مشاهده گردید اما حذف زیستی فسفات مانند حذف زیستی پساب سنتزی واقعی در هر دو ریزجلبک یکسان بود. در شرایطی که محلول ریزمغذی افزوده شد، نسبت به پساب عملکرد ریزجلبک *C. vulgaris* بهبود چشم‌گیری بوجود آمد که در شکل (۴) به‌خوبی قابل مشاهده است. همچنین میزان حذف زیستی فسفات و نیترات در این سویه بیش از *S. quadricauda* بوده و از سوی دیگر، زیست توده نهایی  $۳۵\%$  رشد نشان می‌دهد در حالی که *S. quadricauda* دارای رشد  $۲۵\%$  بود. علت این امر مصرف بالاتر نیتروژن و فسفر در این سویه می‌باشد.

با توجه به نمودارهای حذف زیستی در هر دو ریزجلبک می‌توان مشاهده کرد که سرعت حذف زیستی آمونیوم در روزهای نخست بیشتر از نیترات بوده است. این امر به دلیل فرم



محدودیت استفاده از سیستم های کشت ریزجلبک در پساب، زمان کشت زیاد است، نتایج این تحقیق می تواند نویدبخش راهکاری جدید و اقتصادی به منظور حذف کامل ترکیبات آلاینده مغذی موجود در پساب های فراوری گوشت باشد. همچنین تولید زیست توده ریزجلبک به عنوان محصول نهایی حاصل از این تجزیه زیستی می تواند در تولید سوخت زیستی، لیپید، کود زیستی و ... مورد استفاده قرار گیرد.

### تضاد منافع

نویسندگان این مقاله اعلام می دارند که هیچگونه تضاد منافی وجود ندارد.

### تشکر و قدردانی

مقاله حاضر از پایان نامه دکتری در رشته مهندسی بیوتکنولوژی محیط زیست با عنوان بررسی راندمان حذف ترکیبات نیتروژن و فسفر از پساب با استفاده از تکنیک گرسنگی ریزجلبک که در سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران در حال انجام است استخراج گردیده است. نویسندگان این مقاله بر خود لازم می داند از راهنمایی های خانم مهندس ندا بدلی در جهت نگارش مقاله، تشکر و قدردانی نماید.

### References

- 1-Ghadermazi A, Javanshir A, Moezzi F, Mafakheri P. Investigation of Potential of *Chlorella vulgaris* in the Closed loop Removal of Nitrate and Phosphate Repelled by Fish. Proceedings of the First Bioremediation Conference: 2013 Dec. Tehran, Iran. Sharif University of Technology; 2013.
- 2-Flugaur NJ. Wastewater Effluent Treatments and Control Technologies In the Beef Processing Industry [submitte for Master of Science Degree]. University of Wisconsin–Stout. 2003.
- 3-EPA U. Primer for Municipal Wastewater Treatment Systems, Document No. 2004; 832 -4.
- 4- Su Y. Settleable algal-bacterial culture for municipal wastewater treatment [submitte for Master of Science Degree]. Leuphana Universität Lüneburg.2012.

افزایش سرعت حذف زیستی داشت به طوری که سرعت حذف این سه ترکیب تا  $1.3 \text{ mg/L.day}$ ،  $0.77 \text{ mg/L.day}$  و  $0.6 \text{ mg/L.day}$  افزایش یافت. مقایسه نمودارهای بدست آمده برای سویه *C. vulgaris* نشان می دهد که نوسان pH در آزمایش WRC بالا بوده اما در دو آزمایشی که فسفات افزایش یافت، این پارامتر به طور مشابه کشت ریزجلبک *S. quadriquadra* در طی فرایند تصفیه دارای ثبات بود.

جدول (۱) دربردارندهی نتایج مطالعات منتشرشده در خصوص ریزجلبک های *S. quadriquadra* و *C. vulgaris* در حذف آلاینده ها از پساب صنعتی و شهری است. از جدول ۱ ملاحظه می شود که بیشینه حذف زیستی پساب و زیست توده نهایی، در حضور ریزمغذی و بهبود نسبت نیتروژن به فسفات حاصل شده و درصد حذف آلاینده های آمونیم، نترات و فسفات برای هر دو سویه در تحقیق حاضر، قابل قبول می باشد.

آنچه مسلم است پساب صنایع فراوری گوشت می تواند محیطی مناسبی برای رشد ریزجلبک فراهم نماید. هرچند دست یابی به راندمان مناسب حذف، نیازمند تصحیح مقدار سطح فسفر و افزودن ریزمغذی به پساب واقعی است. با وجود اینکه مهمترین



- 5- Griffiths EW. Removal and utilization of wastewater nutrients for algae biomass and biofuels [submitted for Master of Science Degree]. Utah State University.2009.
- 6- Chu W-L. Biotechnological applications of microalgae. *IeJSME*.2012;6(1): 24-37.
- 7- Zamani N, Noshadi M, Amin S, Ghasemi Y. Nitrate-nitrogen and Orthophosphate Removal from Municipal WasteWater Using Biotechnology - Microalgae. *Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Symposium on Environmental Engineering: 2010 Jan. Tehran, Iran: Khajeh Nasir Toosi University of Technology.*
- 8-Lu Q, Zhou W, Min M, Ma X, Chandra C, Doan YT, et al. Growing *Chlorella* sp. on meat processing wastewater for nutrient removal and biomass production. *Biores Technol* .2015;198:189-97.
- 9-Boelee N, Temmink H, Janssen M, Buisman C, Wijffels R. Nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater effluent using microalgal biofilms. *Water Res* .2011;45(18):5925-33.
- 10-Geider RJ, La Roche J. Redfield revisited: variability of C/N/P in marine microalgae and its biochemical basis. *Eur J Phycol* .2002;37(1):1-17.
- 11-Sreesai S, Pakpain P. Nutrient recycling by *Chlorella vulgaris* from septage effluent of the Bangkok City, Thailand. *ScienceAsia*.2007;33(3):293.
- 12-Heidari S, Farhadian O, Soofiani NM. Biomass Production and Ammonia and Nitrite Removal from Fish Farm Effluent by *Scenedesmus quadricauda* Culture. *J Environ Stud*.2011;37(59):7-8.
- 13-Roudsari FP, Mehrnia MR, Asadi A, Moayedi Z, Ranjbar R. Effect of microalgae/activated sludge ratio on cooperative treatment of anaerobic effluent of municipal wastewater. *Appl Biochem Biotechnol*.2014;172(1):131-40.
- 14-Greenberg Arnold E, Clesceri Lenore S. Standard methods for the examination of water and wastewater. USA: American Public Health Association.1992 ;207-1.
- 15-Xin L, Hong-ying H, Ke G, Ying-xue S. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. *Bioresour Technol*.2010;101(14):5494-500.
- 16-He P, Mao B, Lu F, Shao L, Lee D, Chang J. The combined effect of bacteria and *Chlorella vulgaris* on the treatment of municipal wastewaters. *Bioresour Technol*.2013;146:562-8.



- 17-Guruvaiah M, Narra M, Dixit G, Karawadia P, Shah D. Isolation, Screening and Optimization of Estuary Region (Khambhat, Gujarat) Microalgae for Lipid/Oil Production. *Int J Appl Sci Biotechnol*.2015;3(2):197-201.
- 18-Anand J, Arumugam M. Enhanced lipid accumulation and biomass yield of *Scenedesmus quadricauda* under nitrogen starved condition. *Bioresour Technol*.2015;188:190-4.
- 19-Al-Shatri AHA, Ali E, Al-Shorgani NKN, Kalil MS. Growth of *Scenedesmus dimorphus* in different algal media and pH profile due to secreted metabolites. *African Journal of Biotechnology*. 2014;13(16).
- 20-Chia MA, Musa RI. Effect of indigo dye effluent on the growth, biomass production and phenotypic plasticity of *Scenedesmus quadricauda* (Chlorococcales). *An Acad Bras Cienc* 2014;86(1):419-28.
- 21-Agwa O, Abu G. Influence of Various Nitrogen Sources on Biomass and Lipid Production by *Chlorella vulgaris*. *Br Biotechnol J* 2016;15(2):1-13.
- 22-Arumugam M, Agarwal A, Arya MC, Ahmed Z. Influence of nitrogen sources on biomass productivity of microalgae *Scenedesmus bijugatus*. *Bioresour Technol* 2013;131:246-9.
- 23- Han L ,Pei H, Hu W, Jiang L, Ma G, Zhang S, et al. Integrated campus sewage treatment and biomass production by *Scenedesmus quadricauda* SDEC-13. *Bioresour Technol* 2015;175:262-8.
- 24- Wong YK, Yung KKL, Tsang YF, Xia Y, Wang L, Ho K. *Scenedesmus quadricauda* for nutrient removal and lipid production in wastewater. *Water Environ Res* 2015;87(12):2037-44.
- 25- Fierro S, Del Pilar Sanchez-Saavedra M, Copalca C. Nitrate and phosphate removal by chitosan immobilized *Scenedesmus*. *Bioresour Technol*.2008;99(5):1274-9.
- 26- Doria E, Longoni P, Scibilia L, Iazzi N, Cella R, Nielsen E. Isolation and characterization of a *Scenedesmus acutus* strain to be used for bioremediation of urban wastewater. *J Appl Psychol* .2012;24(3):375-83.
- 27- Jalal KCA, Alam MZ, Matin WA, Kamaruzzaman B, Akbar J, Hossain T. Removal of Nitrate and Phosphate from Municipal Wastewater Sludge by *Chlorella vulgaris*, *Spirulina platensis* and *Scenedesmus quadricauda*. *IIUM Engineering Journal*.2011;12(4).
- 28- Feng Y ,Li C, Zhang D. Lipid production of *Chlorella vulgaris* cultured in artificial wastewater medium. *Bioresour Technol*.2011;102(1):101-5.



29- Perez-Garcia O, Bashan Y, Esther Puente M. Organic carbon supplementation of sterilized municipal wastewater is essential for heterotrophic growth and removing ammonium by the microalga *Chlorella vulgaris*. *J Phycol.*2011;47(1):190-9.