[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.4.5]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118936]

بررسی قابلیت ریزجلبک *Chlorella vulgaris* برای حذف نیترات و فسفات درغلظت و شرایط محیطی متفاوت با استفاده از رویه سطح پاسخ

آریا وزیرزاده*[۱]، حامد مقدس‌زاده[۱]

*vazirzadeh@shirazu.ac.ir

۱- بخش مهندسی منابع طبیعی و محیط زیست، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۷

چکیده

به منظور بررسی کارایی ریزجلبک *Chlorella vulgaris* در حذف نیترات و فسفات آب، با استفاده از رویه سطح پاسخ، تعداد ۲۰ آزمایش طراحی شد و اثرات غلظت نیترات و فسفات اولیه و دوره نوری و برهمکنش آنها بررسی شد. مهمترین عوامل موثر بر کارایی حذف نیترات شامل غلظت نیترات، دوره نوری و برهمکنش دوره نوری- فسفات بود. بیشینه کارایی حذف نیترات (۴۹/۴۲ درصد) در شرایطی بدست آمد که غلظت اولیه نیترات (۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر)، غلظت اولیه‌ی فسفات (۴۰ میلی‌گرم بر لیتر) و دوره‌ی نوری (۱۶ساعت) بودند. غلظت فسفات، طول دوره نوری و برهمکنش غلظت فسفات- نیترات و فسفات- دوره نوری مهمترین فاکتورهای تاثیرگذار بر کارایی حذف فسفات بودند. بیشینه کارایی حذف فسفات (۴۱/۶۱ درصد) در شرایطی بدست آمد که غلظت اولیه نیترات (۲۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر)، غلظت اولیه فسفات (۶۰ میلی‌گرم بر لیتر) و دوره نوری (۲۴ ساعت) بودند.

لغات کلیدی: حذف نیترات، حذف فسفات، دوره نوری، *C. vulgaris*، رویه سطح پاسخ

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.4.5]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118936]

مقدمه

در عصر حاضر یکی از نگرانی‌های بزرگ جوامع انسانی، مشکلات ناشی از آلودگی منابع آب است. آلودگی، عارضه‌ای انسان ساخت می باشد و به طورکلی، هرگونه تجمع بیش از حد استاندارد از مواد با منشا طبیعی یا مواد سنتز شده توسط انسان[1] در طبیعت، تحت عنوان آلودگی شناخته می‌شود (Mouchet, 1986). تخلیه فاضلاب‌های شهری، صنعتی و دامداری تصفیه نشده، زه‌آب سیستم‌های کشاورزی و خروجی سیستم‌های تصفیه فاضلاب شهری مرسوم، به آبراه‌ها و پهنه‌های آبی، عوامل اصلی آلوده کننده منابع آبی بخصوص آبهای شیرین در طول دهه های اخیر بوده‌اند (Park *et al.*, 2010). ورود این منابع به پهنه‌های آبی از سویی، سبب تشدید پدیده‌هایی چون شکوفایی جلبکی و به دنبال آن برهم خوردن تعادل اکولوژیک پهنه‌های آبی و از سوی دیگر، موجب کاهش کیفیت آب می‌گردد. از اینرو، در کشورهایی مثل ایران که با تنش‌های کم آبی و دسترسی با آب سالم مواجه هستند، توجه به توسعه تکنولوژی تصفیه فاضلاب و بازیابی منابع موجود در آن از قبیل آب شیرین، فسفر، نیتروژن و ... بیش از سایر کشورهای جهان ضرورت دارد (Pittman *et al.*, 2011). حذف فسفر و نیتروژن موجود در آب خروجی سیستم‌های تصفیه‌ی فاضلاب به روش‌های مختلف شیمیایی و زیستی صورت می‌گیرد. روش‌های شیمیایی علاوه بر هزینه‌ی زیاد، از نظر زیست‌محیطی ایمن نیستند و موجب آلودگی ثانویه لجن حاصل در کولاب‌های تصفیه می‌گردند. بعلاوه، مشکلاتی در رابطه با دفع ایمن لجن آلوده وجود دارد (Hoffmann, 1998). از اینرو، تصفیه پساب‌ها بطریقی که خود منجر به معضل جدیدی نشود، سال‌هاست که مورد تحقیق و پژوهش قرار گرفته است. بیش از پنجاه سال است که از ریزجلبک‌ها در تصفیه فاضلاب استفاده می‌شود. کاربرد ریزجلبک‌ها برای تصفیه پساب‌ها دارای مزایای متعددی است که از مهم‌ترین آن می‌توان به عدم ایجاد خطرات زیست‌محیطی با تکیه بر اصول اکوسیستم‌های طبیعی، عدم ایجاد آلودگی ثانویه در صورت استفاده از بیومس تولیدی و توانایی ریزجلبک‌ها در بازچرخش موثر مواد مغذی موجود در پساب‌های ثانویه اشاره کرد (Delgadillo-Mirquez *et al.*, 2016). بسیاری از مطالعات، قابلیت حیات و سودمندی ریزجلبک‌ها را در پاکسازی پساب‌ها نشان داده‌اند.

از جمله مطالعات انجام شده بر قابلیت حذف نیترات و فسفات پساب توسط ریزجلبک‌ها می‌توان به مطالعات صورت‌گرفته بر ریزجلبک *C. vulgaris* اشاره نمود که قابلیت این ریزجلبک در حذف ازت و فسفر پساب اولیه و فاضلاب شهری مورد بررسی قرار گرفت و طی دوره کشت ۱۰ روزه توانست بیش از ۹۰ درصد آمونیوم و ۸۰ درصد فسفات را در تمامی تیمارها بجز در تیمار با تراکم پایین حذف نماید (Tam *et al.*, 1994). از دیگر مطالعات می‌توان به بررسی قابلیت حذف ازت و فسفر پساب توسط دو ریزجلبک *Tetraselmis chuii* و *Dunaliella viridis* اشاره نمود که نتایج آنها نشان داد این دو گونه جلبکی قادرند تا تراکم‌های نمک‌های مغذی محلول را به میزان ۹۰ درصد کمتر از میزانی که در شروع آزمایش‌های زیستی بود، کاهش دهند (Costa *et al.*, 2004). بسیاری از گونه‌های جلبکی، به آلودگی‌های موجود در پساب‌ها مقاوم‌اند و بسرعت در محیط غنی از نیتروژن و فسفر مستقر می‌شوند و با استفاده از این مواد جهت رشد می‌توانند موجب حذف نیتروژن و فسفر پساب گردند و این نشان می‌دهد که سیستم پرورش ریزجلبک‌ها می‌تواند به عنوان جایگزین فرایند تصفیه پساب به منظور حذف مواد مغذی از آنها بکار گرفته شود (Tam and Wong, 1996).

در این تحقیق برخلاف روشهای سنتی که فاکتورهای موثر به صورت جداگانه مورد بررسی قرار می‌گرفتند یا در صورت نیاز به مطالعه برهمکنش فاکتورها به تعداد آزمایش‌های متعدد نیاز بود، از تکنیک جدید طراحی آزمایش‌های بهینه‌سازی یعنی تکنیک‌های سطح پاسخ (RSM)[2] استفاده شده است. مزیت تکنیک RSM آن است که با استفاده ترکیبی از روش های آماری متعدد و با کاهش قابل ملاحظه تعداد تیمارها و تکرارهای آزمایشی ضمن افزایش سهولت آزمایش و کاهش هزینه‌ها برای مطالعه تاثیر همزمان چند فاکتور ورودی بر پاسخ آزمایش، از دقت آماری بسیار بالاتری نسبت به روش های آماری معمول که برای طراحی آزمایش ها بکار می‌رود، برخوردار است (وزیرزاده و مقدس زاده، ۱۳۹۷).

هدف از انجام این تحقیق بررسی اثرات غلظت‌های مختلف نیترات و فسفات محیط کشت و همچنین دوره نوری بر قابلیت حذف نیترات و فسفات در ریزجلبک *C. vulgaris*، با استفاده از روش RSM می‌باشد.

[1] Xenobiotic

[2] Response surface methodology

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.4.5]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118936]

مواد و روش کار

تهیه و کشت ریزجلبک

نمونه اولیه جلبک *C. vulgaris* از دانشکده‌ی داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد و جهت کشت به آزمایشگاه کشت جلبک بخش مهندسی و منابع طبیعی دانشکده کشاورزی منتقل گردید. قبل از هر مرحله از آزمایش از تجهیزات استریل‌سازی شامل آون و دستگاه اتوکلاو برای جلوگیری از آلودگی استفاده گردید. محیط کشت BG-۱۱ جهت کشت اولیه جلبک تهیه شد. درون ارلن‌های یک لیتری با استفاده از هوادهی مداوم و دوره‌ی نوری ۲۴:۰ (روشنایی:تاریکی)، جلبک اولیه‌ی مورد نیاز جهت آزمایش تهیه گردید. به هر یک از ظروف پلاستیکی دو لیتری واحدهای آزمایش تعریف شده توسط نرم افزار (با شرایط غلظت نیترات، فسفات و دوره‌ی نوری مشخص)، مقدار ۲۰۰ میلی‌لیتر از محلول اولیه‌ی جلبک اضافه گردید. با استفاده از هوادهی مداوم توسط پمپ هوا و تنظیم دوره نوری با خاموش و روشن کردن لامپ‌های مهتابی موجود در سیستم آزمایشی (با شدت نورثابت و دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد)، شرایط مورد نیاز جهت آزمایش تامین گردید.

طرح آماری رویه‌ی سطح پاسخ جهت انجام آزمایش

سه متغیر اصلی شامل: غلظت اولیه نیترات، غلظت اولیه فسفات و دوره نوری برای بررسی مقدار تاثیر گذاری بر متغیرهای پاسخ در نظر گرفته شد. برای بررسی تاثیر همزمان متغیرهای ورودی بر متغیرهای خروجی مورد نظر در سه سطح پایین (۱-)، متوسط (۰) و بالا (۱+) از طرح آماری رویه سطح پاسخ و به شیوه طراحی مرکب مرکزی استفاده شد (جدول ۱). در این طرح آماری برای انجام آزمایش‌های مورد نظر با سه متغیر ورودی در سه سطح معین شده، در مجموع ۲۰ آزمایش توسط نرم افزار آماری Design Expert (version 8.0.3) پیشنهاد شد (جدول ۲).

جدول۱: دامنه تغییرات نیترات، فسفات و دوره نوری واحدهای آزمایشی

Table 1: Nitrate, phosphate and photoperiod ranges in the experiment

فاکتور	دامنه		
	-۱	۰	+۱
نیترات (میلی‌گرم/لیتر)	۷۵۰	۱۵۰۰	۲۲۵۰
فسفات (میلی‌گرم/لیتر)	۲۰	۴۰	۶۰
دوره نوری (ساعت)	۸	۱۶	۲۴

جدول ۲: مقادیر پیشنهادی متغیرهای ورودی طراحی مرکب مرکزی و مقادیر واقعی و پیش‌بینی شده‌ی برای پاسخ های کارایی حذف نیترات و کارایی حذف فسفات در ریزجلبک *C. vulgaris*

Table 2: Experimental design by central composite design and experimental and predicted values for nitrate and phosphate removal efficiency.

آزمایش	مقادیر متغیرهای فرآیند			کارایی حذف نیترات (٪)		کارایی حذف فسفات (٪)	
	X_1	X_2	X_3	تخمین	آزمایش	تخمین	آزمایش
۱	۱۵۰۰	۴۰	۱۶	۴۸/۱۳	۴۸/۸۷	۴۲/۴۷	۳۹/۲۶
۲	۱۵۰۰	۲۰	۱۶	۴۸/۲۳	۴۸/۷۶	۲۸/۸۵	۳۱/۵۹
۳	۱۵۰۰	۴۰	۱۶	۳۳/۶۶	۳۳/۴۸	۳۷/۳۵	۳۸/۸۰
۴	۲۲۵۰	۲۰	۸	۳۳/۴۷	۳۵/۳۹	۳۲/۶۷	۳۱/۴۲
۵	۷۵۰	۲۰	۲۴	۲۴/۱۶	۲۲/۵۸	۲۷/۲۵	۲۸/۲۹
۶	۲۲۵۰	۲۰	۲۴	۳۳,۵۶	۳۳,۰۷	۳۵/۴۹	۳۳/۷۶
۷	۷۵۰	۲۰	۲۴	۳۲,۵۴	۳۲,۳۵	۱۹/۱۲	۱۶/۱۰
۸	۲۲۵۰	۶۰	۸	۴۱/۶۵	۴۱/۲۵	۲۴/۹۴	۲۷/۸۷
۹	۲۲۵۰	۶۰	۲۴	۳۴/۶۱	۳۵/۸۲	۳۹/۷۸	۴۱/۶۱
۱۰	۷۵۰	۶۰	۸	۳۹/۲۲	۳۶/۶۶	۳۵/۸۸	۳۵/۱۸
۱۱	۱۵۰۰	۴۰	۱۶	۴۹/۶۱	۴۹/۴۲	۲۴/۲۵	۲۳/۵۰

آزمایش	مقادیر متغیرهای فرآیند			کارایی حذف نیترات (٪)		کارایی حذف فسفات (٪)	
	X_1	X_2	X_3	تخمین	آزمایش	تخمین	آزمایش
۱۲	۱۵۰۰	۴۰	۲۴	۴۶/۴۲	۴۵/۲۵	۱۶/۴۲	۱۸/۳۰
۱۳	۱۵۰۰	۶۰	۱۶	۳۳/۰۸	۳۰/۰۷	۳۳/۸۷	۳۶/۱۳
۱۴	۱۵۰۰	۴۰	۱۶	۲۵/۱۸	۲۶/۸۳	۲۸/۰۷	۲۶/۹۴
۱۵	۷۵۰	۴۰	۱۶	۳۸/۵۷	۴۰/۱۵	۲۸/۴۳	۲۸/۲۰
۱۶	۷۵۰	۶۰	۲۴	۳۸/۵۷	۳۴/۱۴	۲۸/۴۳	۲۹/۸۹
۱۷	۱۵۰۰	۴۰	۱۶	۳۸/۵۷	۴۲/۷۵	۲۸/۴۳	۲۴/۶۵
۱۸	۱۵۰۰	۴۰	۸	۳۵/۳۲	۳۴/۴۶	۲۸/۴۳	۲۷/۹۷
۱۹	۲۲۵۰	۴۰	۱۶	۳۸/۵۷	۴۰/۸۲	۲۸/۴۳	۲۸/۱۳
۲۰	۱۵۰۰	۴۰	۱۶	۳۸/۵۷	۳۶/۹۰	۲۸/۴۳	۲۹/۵۱

X_1: غلظت اولیه نیترات (میلی گرم بر لیتر)؛ X_2: غلظت اولیه فسفات (میلی گرم بر لیتر)؛ X_3: دوره نوری (ساعت).

اندازه‌گیری نیتروژن- نیتراتی

مقادیر نیتروژن-نیتراتی نمونه‌ها بر اساس روش استاندارد اندازه‌گیری آب و پساب سنجش گردید (Greenberg and Clesceri, 1992).

محاسبه درصد کارایی حذف نیترات

پس از اندازه‌گیری غلظت نمونه‌ها، درصد کارایی حذف نیترات با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید (Aslan and Kapdan, 2006):

رابطه ۱: درصد کارایی حذف نیترات = [(غلظت اولیه نیترات / (غلظت نهایی نیترات - غلظت اولیه نیترات)] ×۱۰۰

اندازه‌گیری فسفات واکنش‌گر (ارتوفسفات)

مقادیر فسفات نمونه‌ها بر اساس روش استاندارد اندازه‌گیری آب و پساب سنجش گردید (Greenberg and Clesceri, 1992). فسفات واکنش‌گر موجود در نمونه در حضور اسیدمولیبدیک، اسیدآسکوربیک و آنتیموان به کمپلکس آبی رنگ مولیبدات تبدیل می‌شود.

محاسبه درصد کارایی حذف فسفات

پس از اندازه‌گیری غلظت نمونه ها درصد کارایی حذف فسفات با استفاده از رابطه ۲، محاسبه گردید (Aslan and Kapdan, 2006):

رابطه ۲: درصد کارایی حذف فسفات = [(غلظت اولیه فسفات / غلظت نهایی فسفات - غلظت اولیهی فسفات)] ×۱۰۰

نتایج

تایید صحت مدل جهت مقایسه متغیرهای پاسخ در ریزجلبک *C. vulgaris*

نتایج حاصل از پژوهش نشان می‌دهد، مقادیر مختلف از سه متغیر اصلی فرآیند دارای تفاوت چشمگیری هستند که در نتیجه تجمع اثرات تکی خطی، تکی غیر خطی و چندتایی سطوح مختلف متغیرهای اصلی بر متغیرهای پاسخ ریزجلبک است. همچنین تفاوت اندکی بین مقادیر راندمان واقعی و پیش بینی شده متغیرهای پاسخ نشان دهنده دقت بالای مدل در تخمین متغیرهای پاسخ در ریزجلبک *C. vulgaris* می‌باشد.

به دلیل دقت بالای مدل کوادراتیک[1] در مدل‌سازی متغیرهای پاسخ شامل: درصد کارایی حذف نیترات و فسفات در ریز جلبک *C. vulgaris* آنالیز چندجمله‌ای[2] درجه دوم و مدل کوادراتیک به‌عنوان بهترین مدل برای یافتن رابطه بین متغیرهای اصلی و متغیرهای پاسخ در نظر گرفته شد. جدول آنالیز واریانس که به منظور تایید اعتبار مدل مورد استفاده قرار گرفته شده است، بترتیب برای همه فاکتورها نشان داده شده است (جدول ۳).

[1] Quadratic model
[2] Polynomial analysis

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.4.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118936]

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.4.5]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118936]

جدول ۳: تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) جهت بررسی درصد کارایی حذف نیترات توسط ریزجلبک *C. vulgaris*

Table 3: ANOVA results for nitrate removal efficiency response by *C. vulgaris*.

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار f	مقدارp
مدل	۹۰۹/۰۷	۹	۱۰۱/۰۱	۱۳/۱۶	۰/۰۰۰۲
X_1	۵۳	۱	۵۳	۶/۹۰	۰/۰۲۵۳
X_2	۲۵/۵۲	۱	۲۵/۵۲	۳/۳۲	۰/۰۹۸۲
X_3	۱۵۵/۸۶	۱	۱۵۵/۸۶	۲۰/۳۰	۰/۰۰۱۱
X_1X_2	۰/۰۴۲	۱	۰/۰۴۲	۴۵۴,۵	۰/۹۴۲۶
X_1 X_3	۴۳/۲۴	۱	۴۳/۲۴	۵/۶۳	۰/۰۳۹۱
X_2 X_3	۲۶۱/۱۲	۱	۲۶۱/۱۲	۳۴/۰۱	۰/۰۰۰۲
X_1^2	۷/۵۳	۱	۷/۵۳	۰/۹۸	۰/۳۴۵۳
X_2^2	۲۴۵/۴۴	۱	۲۴۵/۴۴	۳۱/۹۷	۰/۰۰۰۲
X_3^2	۲۴۴/۹۹	۱	۲۴۴/۹۹	۳۱/۹۱	۰/۰۰۰۲
باقیمانده	۷۶/۷۷	۱۰	۷/۶۸		
عدم برازش	۲۹/۹۱	۵	۵/۹۸	۰/۶۴	۰/۶۸۲۹
خطای خام	۴۶/۸۶	۵	۹/۳۷		
کل	۹۸۵/۸۴	۱۹			

X_1: غلظت اولیه نیترات (میلی گرم بر لیتر)؛ X_2: غلظت اولیه فسفات (میلی گرم بر لیتر)؛ X_3: دوره نوری (ساعت)

پس از آنالیز واریانس، برای تمام متغیرهای پاسخ معادله رگرسیون بدست آمدکه همگی ضرایب همبستگی بالایی نشان می‌دهند. آماره دقت کافی[1] عبارت است از گستره متغیرهای پیش‌بینی شده نسبت به خطاهای همراه آنهاست. هرگاه مقدار این آماره بیش از عدد ۴ باشد، مطلوب می‌باشد و نشانگر دقت در پیش‌بینی داده‌هاست (Aghamohammadi *et al.*, 2007). بر اساس این نتایج، رابطه بین درصد کارایی حذف نیترات (Y) و متغیرهای انتخاب شده از نوع معادلات درجه دوم چند متغیره به‌صورت ذیل توصیف می‌گردد.

$$Y= 70.33421 + 5.89E\text{-}03\ X_1 - 2.5334\ X_2 + 2.21625\ X_3 - 4.82E\text{-}06\ X_1X_2 + 3.87E\text{-}04\ X_1X_3 + 0.035707\ X_2X_3 - 2.94E\text{-}06\ X_1^2 + 0.023618\ X_2^2 - 0.14748\ X_3^2$$

پس از آنالیز واریانس، معادله رگرسیون بدست آمد که ضریب همبستگی (R^2) بالای ۰/۹۲ را نشان می‌دهد. مقدار ضریب همبستگی تنظیم شده ۰/۸۵۲۰ بود که با ضریب همبستگی آزمایش نزدیک بود. عبارت‌های مدل شامل غلظت اولیه نیترات (X_1)، بر هم کنش فسفات بر خودش (X_2^2)، دوره‌ی نوری (X_3)، برهم کنش دوره نوری و فسفات (X_2 X_3)، برهم کنش دوره‌ی نوری و نیترات (X_1X_3)، برهم کنش دوره نوری با خودش (X_3^2) نیز به‌دلیل مقدار P کمتر از ۰/۵ معنی‌دار بودند.

[1] Adeq precision

در جدول ۴ نتایج تجزیه و تحلیل معادله رگرسیون برای درصد کارایی حذف نیترات توسط ریزجلبک *C. vulgaris* ارائه شده است.

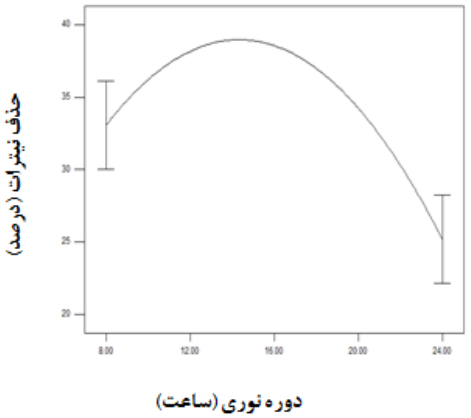
جدول ۴ : نتایج تجزیه وتحلیل معادله‌ی رگرسیون برای درصد کارایی حذف نیترات توسط ریزجلبک *C. vulgaris*

Table 4. Regression analysis for nitrate removal efficiency by *C. vulgaris*.

انحراف از معیار	۲/۷۷
میانگین	۳۷/۷۵
ضریب تغییرات (٪)	۷/۳۴
باقی مانده پیش‌بینی شده	۳۱۸/۸۹
R^2 (ضریب همبستگی)	۰/۹۲۲۱
R^2 تنظیم شده	۰/۸۵۲۰
R^2 پیش‌بینی شده	۰/۶۷۶۵
دقت کافی	۱۲/۹۹۲

تاثیر متغیرهای اصلی فرآیند بر درصد کارایی حذف نیترات

شکل ۱، تاثیر دوره نوری بر درصد کارایی حذف نیترات را نشان می‌دهد. در این شکل، با افزایش دوره نوری تا ۱۶ ساعت، درصد کارایی حذف نیترات با شیب ملایمی افزایش می‌یابد و با افزایش دوره نوری بالاتر از ۱۶ ساعت، درصد کارایی حذف نیترات کاهش می‌یابد.



شکل۱: تاثیر دوره نوری بر درصد کارایی حذف نیترات توسط ریزجلبک *C. vulgari*

Figure 1: The effects of photoperiod on nitrate removal efficiency by *C. vulgari*

شکل ۲، تاثیر برهم کنش سطوح مختلف نوری و غلظت نیترات را بر درصد کارایی حذف نیترات نشان می‌دهد. در این شکل همانطوریکه مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت اولیه نیترات و دوره نوری تا ۱۶ ساعت، درصد کارایی حذف نیترات افزایش می‌یابد و در ادامه با شیب ملایمی کاهش می‌یابد.

شکل ۳، تاثیر برهم کنش سطوح مختلف نوری و فسفات را بر درصد کارایی حذف نیترات نشان می‌دهد. در این شکل همانطوریکه مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت اولیه فسفات درصد کارایی حذف نیترات کاهش می‌یابد و در ادامه روند صعودی در حذف نیترات مشاهده می‌شود. با افزایش دوره نوری تا ۱۶ ساعت، درصد کارایی حذف نیترات افزایش می‌یابد و در ادامه با شیب ملایمی کاهش می‌یابد. به طور کلی، حذف مواد مغذی توسط ریزجلبک مطابق با تراکم سلولی و فعالیت متابولیک آنها صورت می‌گیرد. جذب نیتروژن توسط سلول‌های ریزجلبک طی فعالیت‌های متابولیک پس از کربن از فرآیندهای اصلی است که می‌تواند تا بیش از ۱۰ درصد از بیومس را شامل شود.

بهینه سازی متغیرهای فرآیند برای درصد کارایی حذف نیترات

بیشینه کارایی حذف نیترات در شرایطی بدست آمد که غلظت اولیه نیترات ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، غلظت اولیه فسفات ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر و دوره نوری ۱۶ساعت بودند. در این شرایط بیشینه‌ی کارایی حذف نیترات ۴۹/۴۲ درصد پیش‌بینی گردید.

کارآیی جلبک در حذف فسفات

آنالیز واریانس (ANOVA) که به منظور تایید اعتبار مدل جهت بررسی درصد کارایی حذف فسفات توسط ریزجلبک *C. vulgaris* مورد استفاده قرار گرفته شده است، در جدول ۵ ارائه شده است.

بر اساس این نتایج، رابطه بین درصد کارایی حذف فسفات (Y) و متغیرهای انتخاب شده از نوع معادلات درجه دوم چند متغیره به صورت ذیل توصیف می‌گردد.

$$Y = 67.04477 - 0.06568\ X_1 + 1.559939\ X_2 - 1.47262\ X_3 + 0.000138\ X_1X_2 + 0.000466\ X_1X_3 - 0.02139\ X_2X_3 + 1.67E\text{-}05\ X_1^2 - 0.02025\ X_2^2 + 0.039602\ X_3^2$$

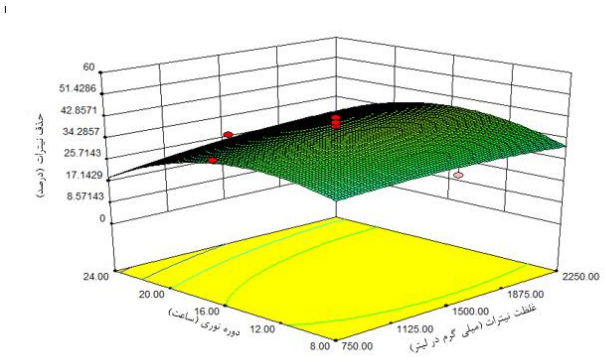
پس از آنالیز واریانس، معادله رگرسیونی بدست آمد که ضریب همبستگی بالای ۰/۹ را نشان می‌دهد. مقدار ضریب همبستگی تنظیم شده ۰/۸۱۰۱ بود که با ضریب همبستگی آزمایش رابطه نزدیکی داشت. عبارت‌های مدل شامل غلظت اولیه فسفات (X_2)، دوره‌ی نوری (X_3)، برهم کنش غلظت اولیه نیترات بر دوره نوری (X_1X_3)، برهم کنش غلظت اولیه فسفات بر دوره نوری (X_2X_3)، برهم کنش غلظت اولیه نیترات بر خودش (X_1^2) و برهم کنش غلظت اولیه فسفات بر خودش (X_2^2) نیز به دلیل p کمتر از۰/۰۵ معنی‌دار بودند. نتایج تجزیه وتحلیل معادله‌ی رگرسیون برای درصد کارایی حذف فسفات در جدول ۶ ارائه شده است که تفاوت ناچیز ضریب همبستگی و R^2 تنظیم شده حاکی از صحت و دقت مدل بکار رفته دارد.

تاثیر متغیرهای اصلی فرآیند بر درصد کارایی حذف فسفات

تاثیر سطوح مختلف متغیرهای اصلی بر درصد کارایی حذف فسفات در شکل ۴ نمایش داده شده است. شکل (۴-الف)، تاثیر غلظت‌های مختلف فسفات بر درصد کارایی حذف فسفات را نشان می‌دهد. در این شکل همانطوریکه مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت اولیه فسفات درصد کارایی حذف فسفات افزایش می‌یابد، بطوریکه بیشترین میزان این شاخص زمانی است که میزان فسفات تقریبا ۴۰ میلی گرم بر لیتر است و در ادامه با افزایش غلظت اولیه فسفات درصد کارایی حذف فسفات کاهش می‌یابد.

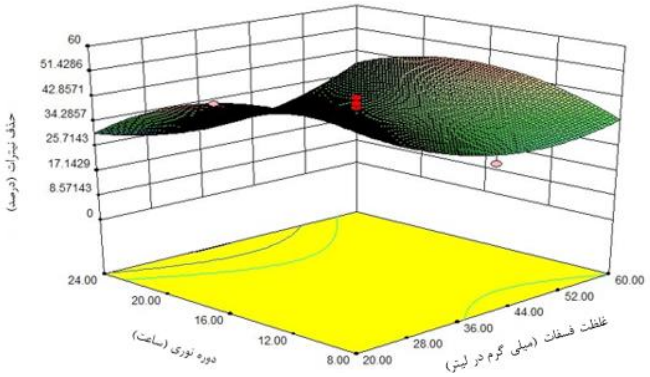
[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.4.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118936]

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]



شکل ۲: تاثیر برهم کنش سطوح مختلف نوری و غلظت نیترات بر درصد کارایی حذف نیترات توسط ریزجلبک *C. vulgaris*

Figure 2: The interaction effects of photoperiod and nitrate levels on nitrate removal efficiency by *C. vulgari*



شکل ۳: تاثیر برهم کنش سطوح مختلف نوری و غلظت فسفات بر درصد کارایی حذف نیترات توسط ریزجلبک *C. vulgaris*

Figure 3: The interaction effects of photoperiod and phosphate levels on nitrate removal efficiency by *C. vulgari*

جدول ۵: تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) برای درصد کارایی حذف فسفات توسط ریزجلبک *C. vulgaris*

Table 5: Regression analysis for nitrate removal efficiency by *C. vulgaris*.

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار f	مقدارp
مدل	۸۳۰/۶۱	۹	۹۲/۲۹	۱۰/۰۱	۰/۰۰۰۶
X_1	۳۸/۰۷	۱	۳۸/۰۷	۴/۱۳	۰/۰۶۹۶
X_2	۱۵۳//۵۶	۱	۱۵۳/۵۶	۱۶/۶۵	۰/۰۰۲۲
X3	۸۳/۹۱	۱	۸۳/۹۱	۹/۱۰	۰/۰۱۳۰
X_1X_2	۳۴/۰۵	۱	۳۴/۰۵	۳/۶۹	۰/۰۸۳۶
X_1 X_3	۶۲/۵۲	۱	۶۲/۵۲	۶/۷۸	۰/۰۲۶۳
X_2 X_3	۹۳/۷۱	۱	۹۳/۷۱	۱۰/۱۶	۰/۰۰۹۷
X_1^2	۲۴۲/۹۰	۱	۲۴۲/۹۰	۲۶/۳۴	۰/۰۰۰۴
X_2^2	۱۸۰/۴۱	۱	۱۸۰/۴۱	۱۹/۵۶	۰/۰۰۱۳
X_3^2	۱۷/۶۷	۱	۱۷/۶۷	۱/۹۲	۰/۱۹۶۵
باقیمانده	۹۲/۲۳	۱۰	۹/۲۲		
عدم برازش	۷۵/۱۲	۵	۱۵/۰۲	۴/۳۹	۰/۰۶۵۱
خطای خام	۱۷/۱۱	۵	۳/۴۲		
کل	۹۲۲/۸۴	۱۹			

X_1: غلظت اولیه نیترات (میلی گرم بر لیتر)؛ X_2: غلظت اولیه فسفات (میلی گرم بر لیتر)؛ X_3: دوره نوری (ساعت).

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.4.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118936]

جدول ۶: نتایج تجزیه وتحلیل معادله رگرسیون برای درصد کارایی حذف فسفات توسط ریزجلبک *C. vulgaris*

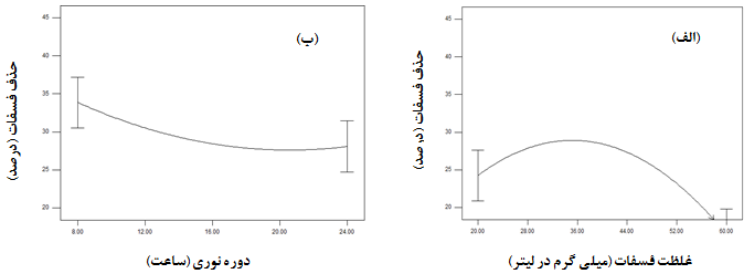
Table 6: Regression analysis for phosphate removal efficiency by *C. vulgaris*.

انحراف از معیار	۳/۰۴
میانگین	۳۰/۳۵
ضریب تغییرات (٪)	۱۰/۰۱
باقی مانده پیش‌بینی شده	۱۴۷۸/۹۷
(ضریب همبستگی)R^2	۰/۹۰۰۱
تنظیم شدهR^2	۰/۸۱۰۱
پیش‌بینی شدهR^2	۰/۶۰۲۶
دقت کافی	۱۲/۱۳۳

شکل (۴-ب)، تاثیر دوره نوری بر درصد کارایی حذف فسفات را نشان می‌دهد. همانطوریکه در شکل ملاحظه می‌شود، با افزایش دوره نوری درصد کارایی حذف فسفات کاهش می‌یابد و در ادامه با شیب ملایمی افزایش می‌یابد.

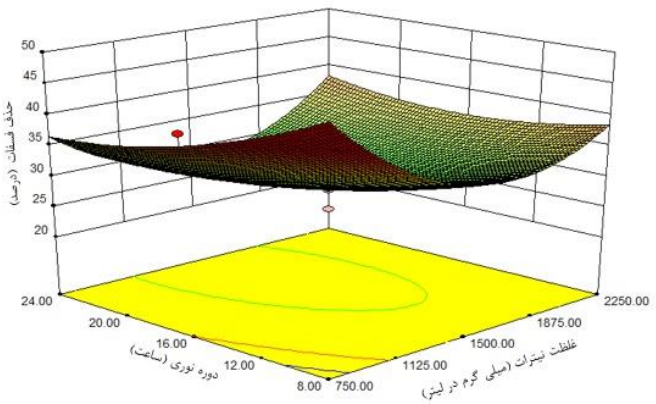
شکل ۵ تاثیر برهم کنش غلظت اولیه‌ی نیترات و دوره نوری بر درصد کارایی حذف فسفات را نشان می‌دهد. همانطوریکه در شکل مشاهده می‌شود با افزایش اولیه دوره نوری تا ۲۰ ساعت و غلظت اولیه نیترات تا ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، درصد کارایی حذف فسفات کاهش و در ادامه افزایش می‌یابد.

شکل ۶ تاثیر برهم کنش غلظت اولیه فسفات و دوره نوری بر درصد کارایی حذف فسفات را نشان می‌دهد. همانطوریکه در شکل ملاحظه می‌شود با افزایش غلظت اولیه فسفات درصد کارایی حذف فسفات افزایش می‌یابد، درحالیکه با افزایش دوره نوری درصد کارایی حذف فسفات کاهش می‌یابد و در ادامه، روند صعودی در حذف فسفات مشاهده می‌شود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که در دوره‌های نوری پائین تعداد سلول‌های ریزجلبک نسبت به دوره‌های نوری بالاتر کمتر است. بنابراین، تعداد سلول کمتر باعث کاهش توانایی کلی ریزجلبک در حذف فسفات محیط می‌شود. با توجه به شکل، بیشینه حذف فسفات، در ۲۴ ساعت روشنایی مشاهده می‌شود.



شکل ۴: تاثیر غلظت فسفات (الف) و دوره نوری (ب) بر درصد کارایی حذف فسفات توسط ریزجلبک *C. vulgaris*

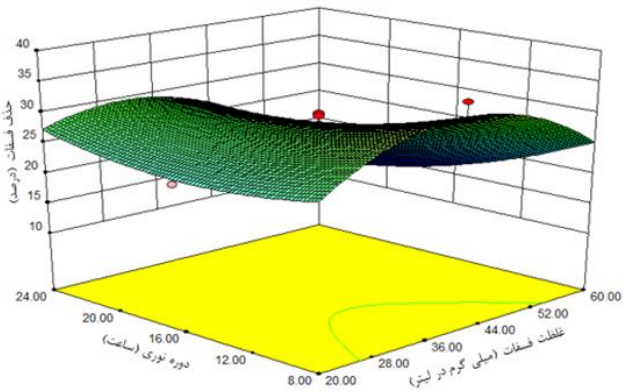
Figure 4: The effects of phosphate and photoperiod levels on phosphate removal efficiency responses by *C. vulgaris*.



شکل ۵: برهم کنش غلظت اولیه نیترات و دوره نوری بر درصد کارایی حذف فسفات توسط ریزجلبک *C. vulgaris*

Figure 5: The effects of nitrate and photoperiod levels on phosphate removal efficiency by *C. vulgaris*.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.4.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118936]



شکل ۶: تاثیر برهم کنش غلظت اولیه فسفات و دوره نوری بر درصد کارایی حذف فسفات توسط ریزجلبک *C. vulgaris*

Figure 6: The effects of phosphate and photoperiod levels on phosphate removal efficiency by *C. vulgaris*.

بهینه سازی متغیرهای فرآیند برای درصد کارایی حذف فسفات

بیشینه کارایی حذف فسفات در شرایطی بدست آمد که غلظت اولیه نیترات ۲۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، غلظت اولیه فسفات ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر و دوره نوری ۲۴ ساعت بودند. در این شرایط بیشینه کارایی حذف فسفات ۴۱/۶۱ درصد پیش‌بینی گردید.

بحث

نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد، با افزایش دوره نوری تا آستانه تحمل ریزجلبک نرخ رشد و تعداد سلول ریزجلبک افزایش می‌یابد و با افزایش تعداد سلول‌ها درصد کارایی حذف نیترات افزایش می‌یابد. بنابراین، تعداد سلول کمتر در دوره‌های نوری کمتر و بیشتر از ۱۶ ساعت سبب کاهش توانایی کلی ریزجلبک در حذف نیترات محیط خواهد شد. تأثیر نیتروژن، شوری، آهن و نور بر تولیدات چربی و رشد در ۴ گونه‌ی ریزجلبک آب شیرین *Botryococcus* spp. بررسی شد و نرخ رشد و تعداد سلول‌های ایجاد شده، همچنین ترکیبات تولید شده در حضور محیط کشت غنی از نیتروژن افزایش یافت (Yeesang and Cheirsilp, 2011). همچنین نتایج نشان داد که با افزایش دوره نوری تا محدوده‌ی تحمل ریزجلبک، افزایش جذب مواد مغذی صورت می‌گیرد (گرگیج و همکاران، ۱۳۹۷).

به طور کلی، فسفر یکی از مواد مغذی ضروری جهت رشد ریزجلبک‌ها بشمار می‌رود. ریزجلبک‌ها فسفر مورد نیاز خود را به صورت ارتوفسفات غیرآلی جذب می‌کنند. جذب ارتوفسفات فرآیندی فعال است که نیازمند انرژی می‌باشد. فسفات آلی می‌تواند بوسیله فسفاتاز موجود در سطح سلولی به ارتوفسفات تبدیل شود و این امر زمانی اتفاق می‌افتد که فسفات غیرآلی در مقادیر کم موجود باشد. کاهش فسفات در جلبک‌ها به دو صورت جذب مستقیم سلول‌ها تحت شرایط هوازی و ته‌نشینی امکان‌پذیر است. ریزجلبک‌ها قادرند فسفر را به فرم گرانول‌های فسفات ذخیره کنند که می‌تواند برای رشد طولانی در غیاب فسفر در دسترس، مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین، نرخ رشد یک ریزجلبک می‌تواند بدون پاسخ و تاثیر فوری به تغییرات خارجی فسفر صورت پذیرد (Oliver and Ganf, 2000).

در پژوهشی بهترین دوره نوری جهت دستیابی به حداکثر نرخ رشد ریزجلبک *Chlorella vulgaris* دوره نوری ۱۶:۸ (روشنایی:تاریکی) گزارش شد و در دوره‌های نوری بالاتر و پایین‌تر از ۱۶ ساعت روشنایی، تقسیم سلولی و نرخ رشد کاهش می‌یابد و در نتیجه جذب مواد مغذی محیط توسط سلول‌های ریزجلبکی نیز کاهش می‌یابد (Seyfabadi *et al*., 2011). همچنین تحقیقی جهت بررسی اثرات شدت و دوره نوری بر نرخ رشد سه گونه ریزجلبک آب شیرین نشان می‌دهد که در هر سه گونه مورد مطالعه، در شدت‌ها و دوره نوری بالاتر تا محدوده قابل تحمل ریزجلبک، نرخ رشد و تولید بیومس سلولی افزایش می‌یابد و جذب مواد مغذی از محیط کشت با سرعت بیشتری صورت می‌گیرد (Bouterfas *et al*., 2006).

تشکر و قدردانی

هزینه انجام این تحقیق توسط دانشگاه شیراز تامین شده است. از آقایان دکتر گلمکانی و دکتر یونسی بابت مشاورت های علمی سپاسگزاری می‌گردد. از آقای مهندس جعفری فرد بابت همیاری در انجام آزمایش‌ها و تحلیل نتایج تشکر می‌گردد.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.4.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118936]

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.4.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118936]

منابع

گرگیج جاسکی م، یحیـوی م، روحـانی قـادیکلایی ک، سالارزاده ع. ۱۳۹۷. اثر منابع مختلف نیتروژنی بر میـزان زیتوده و محتوی پروتئینـی جلبـک سـبز-آبـی اسـپیرولینا پلاتنسیس . (*Spirulina platensis*) مجله علمی شـیلات ایران،۲۷ (۶) :۵۷-۶۵

وزیرزاده آ، مقدس زاده ح. ۱۳۹۷. بهینه سازی رشد و میزان چربـی و کلروفیـل ریزجلبـک *Chlorella vulgaris* در سطوح مختلف نیتروژن، فسفر و دوره نـوری بـا اسـتفاده از طراحی مرکب مرکزی . (CCD) مجله علمی شیلات ایران، ۲۷ (۳) :۸۵-۹

Aghamohammadi, N., bin Abdul Aziz, H., Isa, M.H. and Zinatizadeh, A.A., 2007. Powdered activated carbon augmented activated sludge process for treatment of semi-aerobic landfill leachate using response surface methodology. *Bioresource Technology*, 98(18): 3570-3578. DOI: 10.1016/j.biortech.2006.11.037

Aslan, S. and Kapdan, I.K., 2006. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. *Ecological Engineering*, 28(1): 64-70. DOI:10.1016/ j.ecoleng 2006.04.003

Bouterfas, R., Belkoura, M. and Dauta, A., 2006. The effects of irradiance and photoperiod on the growth rate of three freshwater green algae isolated from a eutrophic lake. *Limnetica*, 25(3): 647-656.

Costa, R.A.A.M.d., Koening, M.L. and Macedo, S.J.d. 2004. Urban secondary sewage: an alternative medium for the culture of *Tetraselmis chuii* (Prasinophyceae) and *Dunaliella viridis* (Chlorophyceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 47(3): 451-459. DOI:10.1590/S1516-89132004000300016

Delgadillo-Mirquez, L., Lopes, F., Taidi, B. and Pareau, D., 2016. Nitrogen and phosphate removal from wastewater with a mixed microalgae and bacteria culture. *Biotechnology Reports*, 11: 18-26. DOI:10.1016/j.btre. 2016.04.003

Greenberg, A. and Clesceri, S., 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater: USA: American Public Health Association; ISBN 0-87553-207-1.

Hoffmann, J.P., 1998. Wastewater treatment with suspended and nonsuspended algae. *Journal of Phycology*, 34(5): 757-763. DOI:10.1046/j.1529-8817.1998.340757.x

Mouchet, P., 1986. Algae reactions to mineral and organic micropollutants, ecological consequences and possibilities of industrial-scale application: a review. *Water Research*, 20(4): 399-412.

Oliver, R.L. and Ganf, G.G., 2000. Freshwater blooms The ecology of cyanobacteria (pp. 149-194): Springer.

Park, J., Jin, H.F., Lim, B.R., Park, K.Y. and Lee, K., 2010. Ammonia removal from anaerobic digestion effluent of livestock waste using green alga *Scenedesmus* sp.. *Bioresource Technology*, 101(22): 8649-8657. DOI:10.1016/ j.biortech.2010.06.142

Pittman, J.K., Dean, A.P. and Osundeko, O., 2011. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource Technology*, 102(1): 17-25. DOI:10.1016/j.biortech.2010.06.035.

Seyfabadi, J., Ramezanpour, Z. and Khoeyi, Z.A., 2011. Protein, fatty acid, and pigment content of Chlorella vulgaris under different light regimes. *Journal of Applied Phycology*, 23(4): 721-726 . DOI:10.1016/j.biortech.2010.06 .035.

Tam, N. and Wong, Y., 1996. Effect of ammonia concentrations on growth of *Chlorella vulgaris* and nitrogen removal from media. *Bioresource Technology*, 57(1): 45-50. DOI:10.1016/0960-8524(96)00045-4

Tam, N., Lau, P. and Wong, Y.S., 1994. Wastewater inorganic N and P removal by immobilized *Chlorella vulgaris*. *Water Science and Technology*, 30(6): 369-374.

Yeesang, C. and Cheirsilp, B., 2011. Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand. *Bioresource Technology*, 102(3): 3034-3040. DOI:10.1016/j.biortech.2010.10.013

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.4.5]
[ ]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118936]

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.4.5]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118936]

Capability of *Chlorella vulgaris* to remove nitrate and phosphate at different concentrations and condition: studied by response surface methodology

Vazirzadeh A.[1*]; Moghadaszadeh H.[1]

[*]vazirzadeh@shirazu.ac.ir

1-Department of Natural Resources and Environmental Engineering, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz 71441-65186, Iran

Abstract

In order to study the capability of microalgea *Chlorella vulgaris* in removal of nitrate and phosphate from water, the effects of initial concentration of nitrate and phosphate and photoperiod were investigated in 20 experiments proposed by response surface methodology. The most effective factors in nitrate removal include initial nitrate concentration, photoperiod and interaction of phosphate-photoperiod. Highest capability of nitrate removal (49.42%) achieved at the initial nitrate concentration of 1500 mg/l, initial phosphate concentration of 40 mg/l and under 16h of photoperiod. Initial concentration of phosphate, photoperiod and interaction of nitrate-phosphate and phosphate-photoperiod were the main factors affecting phosphate capability of algea. Highest capability of nitrate removal (41.61%) achieved at the initial nitrate concentration of 2250 mg/l, initial phosphate concentration of 60 mg/l and under 24h of photoperiod.

Keywords: Nitrate removal, Phosphate removal, Photoperiod, *Chlorella vulgaris*, Response surface methodology

[*]Corresponding author