(DOI): 10.22092/ISFJ.2025.133397 34(1) 51-63 Iranian Scientific Fisheries Journal

Effects of suspended solids and dilution of molasses on growth, biomass and biorefinery of the green microalga *Scenedesmus quadricauda*

Masoudi M.[1]; Farhadian O.[1*]; Ebrahimi Darcheh E.[1]

*omfarhad@iut.ac.ir

1- Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

Received: February 2025 Accepted: April 2025 Published: May 2025

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Introduction

Algae are the most important photosynthetic groups in aquatic environments, as they are carbon and nitrogen fixers and considered as primary producers (Sigee, 2005; Falkowski and Raven, 2013; Fowler *et al.*, 2013). The growth of algae in wastewater are common phenomenon that has a crucial role in removing minerals and metabolic byproducts. The wastewater from sugar production contains high levels of carbon, nitrogen, and phosphorus, along with high BOD and COD. Molasses is a byproduct of sugar factories and is primarily used as a raw material for yeast production. It also has considerable commercial value in various fermentation processes, animal feed, and biofertilizers (Dahiya *et al.*, 2001; Torabian and Mahjuri, 2004; Kobya and Delipinar, 2008). Molasses contains 45-50% carbohydrates, 15-20% non-aromatic organic compounds, 10-15% ash (minerals), and about 20% water (Kalyuzhnyi and Murray, 2005). Molasses wastewater includes chemicals such as propionic acid, various salts, and fermentation metabolites (Blonskaja and Zub, 2009). In addition to molasses concentration and the stated conditions, which greatly impact the growth of microscopic algae, the role of suspended solids in molasses as another influential factor in algal growth and reproduction can be investigated. The negative effects of suspended solids, particularly at high concentrations are crucial due to their reduction in light intensity. Furthermore, suspended solids can settle on algae surfaces, hindering gas exchange (*e.g.*, oxygen and carbon dioxide), which negatively affects photosynthesis efficiency (Boyd, 2020). On the other hand, the positive effects of suspended solids include stimulating the production of certain secondary metabolites through stress induction in algal cells (Huang *et al.*, 2024).

This study aims to investigate the role of suspended solids and molasses dilution in the growth and biomass production of the green microalga *Scenedesmus quadricauda* and its potential for bioremediation. Understanding suspended solids and molasses dilution levels can contribute to the management of algal

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-14]

cultures in terms of optimizing light intensity, turbidity, culture system design, and the production of valuable secondary metabolites.

Methodology

Molasses wastewater was collected from the Eqlid Sugar Factory, located in Fars province, Iran. The factory processes sugar beets grown by 800 local farmers. The wastewater sample (10 liters) was collected before entering the treatment section of the factory in November 2023. The green microalga *S. quadricauda* was cultured in raw pre-treated wastewater, diluted to target concentrations of 1%, 5%, and 10%, under two conditions: with suspended solids and without suspended solids (Table 1) for 14 days. Seven experimental treatments were prepared, including BBM medium (control) and molasses wastewater with and without suspended solids at three dilution levels: 1% (10 ml/L) 5% (50 ml/L) 10% (100 ml/L). These solutions were added to 5-liter glass Erlenmeyer flasks. The initial pH of all cultures was adjusted to 6.8 using concentrated NaOH and HCl solutions. Before introducing the algal stock, all samples were autoclaved at 121°C for 15 minutes. After cooling, 5% (v/v) of the initial algal stock containing 2×10^6 cells/mL was added. The cultures were incubated under appropriate light conditions provided by fluorescent lamps (60 µmol photons/m²/s) with a 12-hour light/12-hour dark photoperiod and gentle aeration. The water temperature in all treatments was kept constant at 25 ± 2°C. The experiment followed a completely randomized design with three replicates over 14 days. Daily cell counting of *S. quadricauda* was performed using a hemocytometer (depth: 0.1 mm, area: 0.0025 mm²), following the method proposed by Martinez et al. (2000). The specific growth rate was calculated using the formula by Omori and Ikeda (1984). To measure biomass, 100 mL of the algal culture was filtered using pre-weighed membrane filter papers (0.45 µm). The filtered samples were dried in an oven at 80°C for 4 hours. Dry Biomass Measurement and Analytical Methods After drying the algal biomass, it was placed in a desiccator to reach equilibrium with the laboratory environment. The dry weight was then measured, and the difference in weight was used to calculate the dry biomass of the algae (Omori and Ikeda, 1984). Nitrate concentrations were measured using a spectrophotometric colorimetric method at 275 nm and 220 nm, using a UV-VIS spectrophotometer (Nanombana UVISNM98 UV-VIS). Phosphate concentration was determined using spectrophotometry at 880 nm, with a JENWAY 6300 spectrophotometer (Baird *et al.*, 2017). The five-day biochemical oxygen demand (BOD_5) was assessed by adding a specific amount of wastewater to a dilution water solution in 300 mL dark Winkler bottles. The dissolved oxygen (DO) content was measured at the start and after five days of incubation at 20°C, using an oxygen meter. The chemical oxygen demand (COD) was determined using potassium dichromate and silver sulfate reagents, with digestion in a COD reactor for 2 hours, followed by absorbance reading at 600 nm using a spectrophotometer (Baird *et al.*, 2017). This study was conducted using a completely randomized design (CRD) with different treatments (Table 1), each with three replicates. One-way ANOVA was used to determine significant statistical differences, and Duncan's test and Student's t-test were performed for mean comparisons. All statistical analyses were conducted using SPSS software, and the graphs were generated using Excel.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-14]

Results

The total suspended solids (TSS) and dissolved solids (TDS) in the raw molasses wastewater were measured at 7697.2 mg/L and 2540.8 mg/L, respectively. The nitrate and phosphate concentrations were 1595.24 mg/L and 12.73 mg/L, respectively. The BOD_5 and COD values of molasses wastewater were 42,790 mg/L and 136,156 mg/L, respectively. The pH was 5.92, and the electrical conductivity (EC) was 3.97 mS/cm. The cell density of *S. quadricauda* in different treatments, including the control (BBM), molasses wastewater without suspended solids (1%, 5%, 10%), and molasses wastewater with suspended solids (1%, 5%, 10%), was: 1.03×10^6, 1.22×10^6, 1.45×10^6, 7.25×10^5, 1.0×10^6, 9.85×10^5, and 1.05×10^6 cells/mL, respectively. These values correspond to days 14, 14, 14, 14, 11, 14, and 14 of the cultivation period. The highest cell density at the end of the experiment (day 14) was observed in the 1% molasses wastewater with suspended solids treatment. Overall, 1% and 5% molasses wastewater with suspended solids and 1% molasses wastewater without suspended solids showed higher cell densities than the control (BBM). The specific growth rate at the end of day 14 ranged from 0.064 – 0.104 per day, with the highest growth in the 1% molasses wastewater with suspended solids and the lowest in the 10% molasses wastewater with suspended solids. The biomass concentration ranged from 2199.1 – 6343.7 mg/L, with the highest value in the 10% molasses wastewater without suspended solids and the lowest in the 1% molasses wastewater with suspended solids. At low concentrations (1% and 5%), suspended solids had no significant effect on biomass. However, at 10% concentration, the treatment without suspended solids resulted in significantly higher biomass production ($p < 0.05$). The phosphate concentration decreased from 278.3 – 250.4 mg/L to 206.35 – 149.4 mg/L (Figure 2B). Nitrate and phosphate removal was significant in all treatments ($p < 0.05$). The highest nitrate removal (58%) and phosphate removal (46%) were observed in the 10% molasses wastewater without suspended solids (Figure 2C). The BOD_5 removal in molasses wastewater treatments ranged from 92.37 – 99.19%. The highest BOD value after cultivation was observed in the 5% molasses wastewater with suspended solids, and the lowest in the 5% molasses wastewater without suspended solids and 1% molasses wastewater with suspended solids. The highest BOD_5 removal (99.19%) was found in the 5% molasses wastewater without suspended solids, while the lowest (92.37%) occurred in the 1% molasses wastewater without suspended solids. The COD removal ranged from 94.05 – 99.46%, with the highest COD after cultivation found in the 10% molasses wastewater, and the lowest in the 1% molasses wastewater without suspended solids.

Discussion and conclusion

After the 14-day cultivation period, the treatments with 1% and 5% molasses containing suspended solids and 1% molasses without suspended solids exhibited higher cell densities compared to the control treatment, whereas other treatments had lower cell densities than the control. Similar to the present study, Farhadian et al. (2022) reported that the highest cell density of the marine microalga *Tetraselmis tetrahele* was observed in 1% molasses and concluded that the biomass production of *T. tetrahele* in 1% molasses was higher than in 0.5% diluted molasses. They also found that biomass production in molasses treatments was higher compared to other culture media. The results of this study under mixotrophic conditions

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-14]

showed that the highest biomass production occurred in the 10% molasses treatment without suspended solids. Biomass production showed an increasing trend with increasing molasses concentration from 1% to 10% in treatments without suspended solids. Moreover, the biomass produced in the 1% and 5% molasses treatments was almost equal and higher than in the control treatment. However, in the 10% molasses treatment with suspended solids, a noticeable reduction in biomass production was observed, which could be attributed to reduced light penetration in the culture medium. Suspended solids can limit light penetration into the water column, reducing photosynthesis and subsequently decreasing algal biomass. Suspended solids in water can pose serious challenges to aquatic ecosystems. These particles, often introduced through human activities such as agriculture and industrial pollution, can reduce water clarity, hinder the respiration of aquatic organisms, and even cause direct harm. Studies have shown that suspended solids not only affect water quality but also impact microscopic organisms in aquatic environments. These particles can cover the gills of fish and other aquatic organisms, making respiration difficult. Additionally, they can absorb sunlight, limiting photosynthesis in aquatic plants and disrupting the food chain (Bilotta and Brazier, 2008). In this study, all treatments involving *S. quadricauda* resulted in nitrate and phosphate uptake. The highest nitrate removal percentage (58%) was observed in the 10% molasses treatment without suspended solids, while the highest phosphate removal percentage (48%) was recorded in the 10% molasses treatment. Heydari et al. (2011) found that *S. quadricauda* grows well in nitrogen-rich environments, making it suitable for treating nitrogen-enriched wastewater due to its high growth rate and survival. The process of nitrate and phosphate removal by *Scenedesmus* microalgae has been reported in multiple studies (Oswald and Gotass, 1995; Martinez *et al.*, 2000; Voltolina *et al.*, 2004; Wang and Lan, 2011; Arora *et al.*, 2021). Microalgae utilize nitrogen and phosphorus from wastewater to synthesize energy-storing molecules such as adenosine triphosphate (ATP) and adenosine diphosphate (ADP), as well as genetic material. Additionally, inorganic phosphate forms such as orthophosphate, HPO_4^{2-}, and $H_2PO_4^-$ are preferred by microalgal cells, which absorb them via phosphorus transporters in the plasma membrane (Ahmed *et al.*, 2022). A comparison of nitrate and phosphate removal percentages across different concentrations (Figure 2–C) indicated that removal rates were significantly higher in molasses treatments without suspended solids than in those with suspended solids. This suggests that the presence of suspended solids may hinder nitrate and phosphate removal. Therefore, separating suspended solids from the culture medium is crucial for improving the efficiency of algal bioremediation in wastewater treatment. Biochemical Oxygen Demand (BOD) and Chemical Oxygen Demand (COD) were measured and evaluated at the beginning and end of the mixotrophic cultivation experiments.

The highest BOD removal percentage (99.19%) was observed in the 5% molasses treatment without suspended solids, while the lowest BOD removal percentage (92.37%) was recorded in the 1% molasses treatment without suspended solids. Similarly, the highest COD removal percentage (99.46%) was measured in the 10% molasses treatment without suspended solids, whereas the lowest COD removal percentage (94.05%) was found in the 1% molasses treatment without suspended solids. Wang and Lan (2011) stated that biomass production in mixotrophic culture systems is generally higher than in

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-14]

heterotrophic models, possibly due to greater access to carbon sources (CO_2) in mixotrophic conditions. Nagarajan et al. (2019) also reported significant reductions in BOD and COD through microalgal cultivation in wastewater.

The content is subject to carbon reduction. Carbon and organic matter uptake and consumption are also common phenomena in microalgae. Microalgae contribute to the removal of organic substances such as urea and inorganic nutrients, including nitrate and phosphate from wastewater, which helps reduce BOD and COD (Arora *et al.*, 2021). Overall, the results indicate that the biomass obtained from the microalga *S. quadricauda*, cultivated under mixotrophic conditions in molasses wastewater in this study, has numerous advantages, including a short reproductive cycle, enhanced photosynthesis, higher and more efficient nutrient consumption, and effective bioremediation of wastewater (significant reduction of nitrate, phosphate, color, COD, and BOD).

Acknowledgment

This research was supported by Isfahan University and Technology, Isfahan, Iran.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-14]

مجله علمی شیلات ایران ۳٤ (۱) ٥١-٦٣ (DOI): 10.22092/ISFJ.2025.133397

مقاله علمی - پژوهشی:

اثرات جامدات معلق و رقیق‌سازی ملاس بر رشد، زیست‌توده و پالایش زیستی ریزجلبک سبز *Scenedesmus quadricauda*

میلاد مسعودی[۱]، امیدوار فرهادیان*[۱]، عیسی ابراهیمی درچه[۱]

*omfarhad@iut.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: بهمن ۱٤۰۳ تاریخ پذیرش: فروردین ۱٤۰٤ تاریخ چاپ: اردیبهشت ۱٤۰٤

چکیده

در این پژوهش اثرات جامدات معلق و رقیق سازی ملاس بر ریزجلبک *Scenedesmus quadricauda* با هدف تعیین تراکم سلولی، رشد و زیست‌توده جلبکی و ارزیابی پالایش زیستی انجام شد. آزمایش با ۷ تیمار شامل؛ تیمارهای پساب ملاس دارای جامدات معلق در غلظت‌های ۱، ۵ و ۱۰ درصد (حجم/حجم) و پساب ملاس بدون جامدات معلق ۱، ۵ و ۱۰ درصد (حجم/حجم) و تیمار شاهد در محیط کشت BBM برای یک دوره ۱۴ روزه در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. ملاس در تمام تیمارها باعث رشد جلبک *S. quadricauda* گردید و تراکم جلبکی و رشد آن به‌ترتیب دامنه‌ای از $۱/۴۵\times۱۰^{۶}$ - $۷/۲۵\times۱۰^{۵}$ سلول بر میلی‌لیتر و ۰/۱۰۴ – ۰/۰۵۴ در روز به‌دست آمد. بیشترین مقدار زیست‌توده تولیدی ۶۳۴۳/۷ میلی‌گرم بر لیتر در تیمار ملاس ۱۰ درصد بدون جامدات معلق به‌دست آمد و در سایر تیمارها دامنه‌ای از ۴۹۶۷ - ۲۱۹۹/۱ میلی‌گرم بر لیتر داشت. در غلظت‌های کم (۱ و ۵ درصد) تأثیر جامدات معلق بر زیست‌توده جلبک قابل‌ملاحظه نبود، اما در تیمار با غلظت ۱۰ درصد و بدون جامدات معلق زیست‌توده بیشتری به‌دست آمد ($p<0/05$). حذف نیترات و فسفات به طور معنی‌داری در تمام تیمارها انجام شد ($p<0/05$). بیشترین درصد حذف نیترات در تیمار ملاس ۱۰ درصد بدون جامدات معلق (۵۸ درصد) و بیشترین درصد حذف فسفات در تیمار ملاس ۱۰ درصد (۴۸ درصد) به‌دست آمد. کاهش BOD و COD در تمام تیمارها قابل ملاحظه بود و برای BOD دامنه‌ای از ۹۹/۱۹- ۹۲/۳۷ درصد و برای COD دامنه‌ای از ۹۹/۴۶-۹۴/۰۵ بود. بیشترین حذف BOD_5 (۹۹/۱۹ درصد) در تیمار ملاس ۵ درصد و بیشترین درصد حذف COD (۹۹/۴۶ درصد) مربوط به تیمار پساب ملاس ۱۰ درصد هر دو تیمار بدون جامدات معلق به‌دست آمد.

لغات کلیدی: پساب ملاس، زیست‌توده، کیفیت آب، جامدات معلق

*نویسنده مسئول

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-14]

مقدمه

ریزجلبک‌ها، تولیدکنندگان اولیه‌ای که بیش از سه چهارم سطح زمین را پوشانده‌اند و در همه محیط‌های آبی وجود دارند و بخش اساسی در شبکه‌های غذایی اکوسیستم‌های آبی هستند. جلبک‌ها به عنوان تثبیت‌کننده کربن و نیتروژن و تولیدکننده زیست‌توده، از مهم‌ترین گروه‌های اصلی فتوسنتزکننده در محیط‌های آبی هستند (Sigee, 2005; Falkowski and Raven, 2013; Fowler *et al.*, 2013). رشد چشمگیر جلبک‌ها در آبهای غنی از مواد مغذی (پساب‌ها)، یک پدیده عمومی است که در حذف انواع مواد معدنی و مواد حاصل از فعالیت‌های متابولیک موجودات زنده، نقش بسیار مهمی دارد. ریزجلبک‌ها، به علت قدرت جذب زیستی بسیار زیاد، دارای توانایی زیادی برای پالایش زیستی پساب‌هایی هستند که نتیجه فعالیت‌های انسان در عرصه‌های مختلف صنعتی، کشاورزی و شهری هستند. پالایش زیستی پساب به‌وسیله کشت ریزجلبک‌ها نه‌تنها تولید آلودگی اضافه ندارد بلکه ابزاری ارزان و کارآمد برای حذف مواد آلی مانند نیترات و فسفات، مواد معدنی و فلزات سنگین مانند سرب و کادمیوم است که از نظر زیستگاهی و اکوسیستم‌های آبی، بسیار اهمیت دارد (Tam and Wong, 1989; Voltolina *et al.*, 2004; Heydari *et al.*, 2011; Farhadian and Heidari Goujani, 2020).

یکی از مهم‌ترین عوامل تولید ریزجلبک‌ها، تأمین محیط‌کشت مناسب است که امروزه از طریق محیط‌کشت‌های شیمیایی، کودهای شیمیایی، کودهای آلی و پساب‌های مختلف شهری، کشاورزی و صنعتی تأمین می‌گردد. برای مثال، پساب‌های تولیدی، منابع غنی و سرشار از مواد آلی و مغذی (آمونیاک، نیترات و فسفات) است که در صورت استفاده می‌توانند باعث رشد و تولید زیست‌توده ریزجلبک‌ها گردند. همچنین پساب حاصل از کارخانه‌های مواد غذایی و کارخانه‌های عمل‌آوری محصولات (کارخانه قند و الکل) نیز از جمله پساب‌های قابل استفاده برای محیط‌کشت‌های جلبکی هستند (Oswald and Gotass, 1995; Martinez *et al.*, 2000). در مطالعه Yalcin و همکاران (۲۰۰۶) ریزجلبک‌ها می‌توانند به عنوان حذف‌کنندگان مؤثر مواد مغذی در آب باشند و کارایی عملکرد آنها از طریق جذب فعال موادمغذی و استفاده از آن برای تولید زیست‌توده است. به‌واسطه توانایی زیاد ریزجلبک‌ها در جذب فلزات سنگین، از آنها به عنوان تصفیه‌کننده پساب‌های صنعتی یاد می‌شود. ریزجلبک‌ها به دلیل میزان رشد و تولید بسیار بیشتر در مقایسه با سایر گیاهان و ظرفیت ویژه آنها در تثبیت عناصری مانند فسفر، نیتروژن و کربن، همواره مورد توجه قرار گرفته‌اند (Cordell *et al.*, 2011; Farhadian *et al.*, 2023).

در بین گروه‌های صنعت مواد غذایی، پساب صنایع تولید قند و شکر دارای عناصر غذایی کربن، نیتروژن وفسفر و دارای BOD و COD زیاد بوده و بار آلی فراوانی از طریق آنها به محیط‌زیست وارد می‌گردد که به طور قابل ملاحظه‌ای بیش از سایر صنایع مواد غذایی است. ملاس محصول جانبی کارخانه‌های تولید قند و شکر است که به طور اصلی به عنوان مواد اولیه اصلی در تولید مخمر استفاده داشته و در فرآیندهای مختلف تخمیر، خوراک دام و کود زیستی ارزش تجاری زیادی دارد (Dahiya *et al.*, 2001; Torabian and Mahjuri, 2004; Kobya and Delipinar, 2008). ملاس حاوی ۴۵-۵۰ درصد کربوهیدرات، ۲۰-۱۵ درصد مواد آالی غیر آروماتیک، ۱۵-۱۰ درصد خاکستر (مواد معدنی) و حدود ۲۰ درصد آب است (Kalyuzhnyi and Murray, 2005). پساب ملاس شامل مواد شیمیایی مانند اسید پروپیونیک، نمک‌های مختلف، کف زداها، آب و متابولیت‌های تخمیری هست (Blonskaja and Zub, 2009). ملاس حاصل از طبخ یا کریستالیزاسیون تولید قند و شکر از چغندر قند است که ترکیبات آن تابعی از گونه و نژاد چغندر، شرایط کشت چغندر، وضعیت نگهداری و انبارداری چغندر، منطقه جغرافیایی و چگونگی و نحوه فرآیند تولید در کارخانه هست. با توجه به خصوصیات پساب‌های دارای ملاس، از آنها می‌توان برای رشد ریزجلبک‌ها و تولید زیست‌توده ارزان قیمت به صورت مدل پرورش جلبک دگرپروردگی (هتروتروفیک) یا مدل پرورش جلبک بصورت ترکیب خودپروردگی و دگرپروردگی (میکسوتروفیک) استفاده کرد (Kalyuzhnyi and Murray 2005, Farhadian *et al.*, 2022).

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-14]

علاوه بر غلظت ملاس و شرایط مذکور که تاثیرات زیادی بر رشد جلبک‌های میکروسکوپی دارند، می‌توان نقش جامدات معلق موجود در ملاس را به عنوان عامل مهم و تاثیرگذار دیگر در رشد و تولیدمثل جلبک‌ها مورد تحقیق و بررسی قرار داد. اثرات منفی جامدات معلق بر کاهش شدت نور به‌ویژه در غلظت‌های زیاد و در محیط‌های با عمق بیشتر (یا کشت‌های انبوه)، بسیار اهمیت دارد. همچنین جامدات معلق جامد با رسوب بر سطح جلبک‌ها و کاهش تبادل گازها (اکسیژن و دی‌اکسید کربن)، می‌تواند بر کارایی فرآیند فتوسنتز تأثیر منفی داشته باشد (Boyd, 2020). همچنین تاثیرات مثبت جامدات معلق را می‌توان در تولید و تحریک برخی متابولیت‌های ثانویه از طریق ایجاد تنش بر سلول‌های جلبکی بیان کرد (Huang *et al.*, 2024). این تحقیق با هدف بررسی نقش جامدات معلق و رقیق‌سازی ملاس در رشد و زیست‌توده ریزجلبک سبز *S. quadricauda* و بررسی نقش پالایش‌گری آن انجام شد. آگاهی و دانش در زمینه جامدات معلق و میزان رقیق‌سازی ملاس می‌تواند بر مدیریت کشت‌های جلبکی به لحاظ تأمین شدت نور مناسب، کدورت مناسب، طراحی سیستم‌های کشت و تولید متابولیت‌های ثانویه ارزشمند، مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش کار

جمع‌آوری ملاس

ملاس در شکل پساب خروجی از کارخانه قند اقلید (استان فارس)، شهر اقلید، جاده کارخانه قند با UTM مشخص X:662164.685, Y:3415564.354, Zone:39, و طول جغرافیایی: ۵۲/۶۹۵۹ و عرض جغرافیایی: ۳۰/۸۶۲۲ جمع‌آوری گردید. ۸۰۰ کشاورز محلی ماده اولیه چغندر قند کشت شده در این کارخانه را استفاده می‌کنند. جمع‌آوری پساب ملاس قبل از ورود به بخش تصفیه از کارخانه با نمونه‌برداری مقدار ۱۰ لیتر در آبان‌ماه سال ۱۴۰۲ انجام شد.

روش انجام آزمایش

استوک اولیه جلبکی گونه *S. quadricauda* از آزمایشگاه کشت جلبک دانشگاه صنعتی اصفهان تأمین شد. برای رقیق سازی پساب خام ملاس از رقیق سازی بر اساس درصد حجمی یا نسبت حجم پساب خام به حجم آب مقطر استفاده شد. نسبت‌های مورد نظر برای ۱، ۵ و ۱۰ درصد پساب ملاس خام به‌ترتیب دارای ۹۹، ۹۵ و ۹۰ درصد از آب مقطر در نظر گرفته شد. برای جدا کردن جامدات معلق از روش رسوب دادن پساب خام آماده سازی شده ۱، ۵ و ۱۰ درصد در استوانه‌های دو لیتری استفاده شد. اگرچه از روش‌هایی مانند گریز از مرکز نیز می‌توان استفاده نمود، اما در این تحقیق از رسوب دادن طی ۴۸ ساعت استفاده گردید. پس از رقیق سازی و آماده شدن تیمارهای بدون جامدات معلق، کار پرورش ریزجلبک سبز *S. quadricauda* بر تیمارهای مختلف در پساب خام اولیه تصفیه شده پس از رقیق‌سازی در غلظت‌های مطلوب مورد نظر ۱، ۵ و ۱۰ درصد در دو حالت دارای جامدات معلق و بدون جامدات معلق (جدول ۱) به مدت ۱۴ روز انجام شد. بدین‌طریق ۷ تیمار شامل محیط‌کشت‌های BBM (شاهد) و پساب ملاس به دو صورت دارای جامدات معلق و بدون جامدات معلق در سه غلظت ۱ درصد (۱۰ میلی‌لیتر در لیتر)، ۵ درصد (۵۰ میلی‌لیتر در لیتر) و ۱۰ درصد (۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر)، با اضافه کردن به ارلن مایرهای شیشه‌ای ۵ لیتری تهیه شد. آنگاه pH آغازین تمامی کشت‌ها در محدوده ۶/۸ به‌وسیله محلول‌های غلیظ NaOH و HCl تنظیم شد. همه نمونه‌ها قبل از اضافه کردن استوک جلبکی به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه اتوکلاو (مدل ریحان طب کلاس S) با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد، اتوکلاو شدند. پس از اتوکلاو شدن و سرد شدن نمونه‌ها میزان ۵ درصد حجمی استوک اولیه جلبکی با غلظت ۱۶×۲ سلول در میلی‌لیتر اضافه شد و کشت‌های حاصل در شرایط نوری مناسب تأمین شده از لامپ فلورسنت (۶۰ میکرو مول فوتون بر متر مربع بر ثانیه) و هوادهی ملایم با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفت. دمای آب در تمام تیمارها نیز ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد به طور ثابت کنترل گردید. آزمایش در یک دوره ۱۴ روزه، در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد.

شمارش سلول‌های جلبکی و محاسبه رشد ویژه

شمارش سلول‌های ریزجلبک *S. quadricauda* به طور روزانه با روش پیشنهادی Martinez و همکاران (۲۰۰۰) با

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-14]

استفاده از لام هموسیتومتر (عمق ۰/۱ میلی‌متر، مساحت ۰/۰۰۲۵ میلی‌متر) انجام شد. میزان رشد ویژه با رابطه ذیل محاسبه شد (Omori and Ikeda, 1984):

$$SGR=(\ln N2-\ln N1)/\Delta t$$

N2: تعداد سلول‌های ریزجلبک در انتهای آزمایش، N1: تعداد سلول‌های ریزجلبک در ابتدای آزمایش، Δt: تغییرات زمان (روز)

اندازه‌گیری زیست‌توده جلبکی

به منظور اندازه‌گیری زیست توده جلبکی در پایان دوره آزمایش (روز ۱۴)، ابتدا تیمارهای دارای جامدات معلق در استوانه‌های دو لیتری به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند تا با روش رسوب دادن، جلبک‌ها از جامدات معلق جدا سازی شوند. جامدات معلق با سیفون کردن مایع بالایی استوانه خارج شده و باقی‌مانده به عنوان جلبک‌های عاری از جامدات معلق در نظر گرفته شد. برای اندازه‌گیری زیست‌توده خشک جلبکی، از نمونه جلبکی تیمار مورد نظر ۱۰۰ میلی‌لیتر برداشته شده و با کاغذهای صافی غشایی (۰/۴۵ میکرون) از قبل توزین شده، فیلتر گردید. کاغذ صافی حاوی محلول جلبکی در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ۴ ساعت خشک شد. سپس نمونه‌ها در دیسیکاتور با محیط آزمایشگاه هم دما و زیست توده خشک جلبکی اندازه‌گیری و با به‌دست آوردن اختلاف وزن حاصله، زیست‌توده خشک جلبک محاسبه گردید. برای محاسبه زیست توده خشک از رابطه ذیل استفاده شد (Omori and Ikeda, 1984):

$$DW_{(mg/ml)} = ((DW_A - DW_C)/V) \times 1000$$

DW: زیست توده خشک جلبک (میلی‌گرم در لیتر)، DW_A: وزن خشک کاغذ صافی و جلبک، DW_C: وزن خشک کاغذ صافی قبل از فیلتر کردن جلبک، V: حجم نمونه اولیه از محلول جلبکی فیلتر شده

اندازه‌گیری جامدات معلق و جامدات محلول

برای اندازه‌گیری کل جامدات معلق ابتدا مقدار ۱۰۰ میلی لیتر از نمونه مورد نظر از کاغذ فیلتر با روزنه ۴۵/. میکرون عبور داده شد و سپس در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد خشک گردید و انگاه مورد توزین قرار گرفت و با استفاده از تفاوت وزن حاصل مقدار کل جامدات معلق محاسبه شد. برای اندازه‌گیری جامدات محلول نیز مقدار ۲۰۰ میلی لیتر از نمونه مورد نظر در یک ظرف تبخیر قرار گرفت و در آون الکتریکی با دمای ۱۸۰ درجه سانتی گراد کاملاً خشک شد. سپس با توجه به اختلاف وزن حاصل میزان جامدات محلول محاسبه شد (Boyd, 2020).

اندازه‌گیری نیترات و فسفات

مقادیر نیترات با روش رنگ سنجی و با استفاده از معرف سولفانیلیک اسید و (1-naphthyl)- N- ethylenediamine و در طول موج ۵۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل نانومبنا UVISNM98 UV-VIS) اندازه‌گیری شد. مقدار فسفات نیز با روش رنگ‌سنجی با استفاده از معرف مولیبدات آمونیم و تشکیل کمپلکس فسفومولیبدات به رنگ آبی طول موج ۸۸۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل JENWAY 6300) اندازه‌گیری شد (Baird *et al.*, 2017).

اندازه‌گیری BOD و COD

میزان BOD و COD در غلظت‌های مختلف پساب در تیمارهای با جامدات معلق و بدون جامدات معلق اندازه‌گیری شد. مقدار اکسیژن‌خواهی بیوشیمیایی پنج روزه (BOD_5) با اضافه کردن مقادیر معین پساب به محلول آب رقیق‌سازی در ظروف ۳۰۰ میلی‌لیتری و تیره رنگ وینکلر اضافه شد. اندازه‌گیری مقدار اکسیژن محلول پس از ۵ روز نگهداری در انکوباتور با دمای ثابت ۲۰ درجه سانتی‌گراد؛ با اندازه‌گیری به‌وسیله اکسیژن متر در ابتدا و انتهای دوره ۵ روزه برآورد گردید. مقداراکسیژن‌خواهی شیمیایی (COD) با استفاده از معرف‌های دی‌کرومات پتاسیم و سولفات نقره و با قرار گرفتن در راکتور COD به مدت ۲ ساعت و سپس با قرائت مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر تعیین شد (Baird *et al.*, 2017).

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-14]

روش تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

این تحقیق با طراحی آزمایش با تیمارهای مختلف (جدول ۱) هرکدام با سه تکرار در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها با تجزیه واریانس یک‌طرفه به منظور یافتن تفاوت آماری انجام شد. همچنین مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح خطای ۵ درصد و همچنین آزمون T Student انجام شد. برای مقایسه نیترات و فسفات قبل از آزمایش و پس از آزمایش برای تیمارها به طور زوج مستقل انجام شد. کلیه آزمون‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS اشد. نمودارها نیز با نرم‌افزار Excel رسم شدند.

جدول ۱: تیمارها در کشت جلبک *Scenedesmus quadricauda* در این مطالعه

Table 1: Treatments in the cultivation of *Scenedesmus quadricauda* in this study

Treatments	Control treatment	Molasses without Suspended Solids			Molasses with suspended solid		
Treatment concentration (percentage)	BBM	1	5	10	1	5	10

نتایج

مشخصات پساب خام ملاس

برخی از مشخصات پساب خام ملاس مورد استفاده در این تحقیق در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهد که پساب‌ها غنی از نیترات و فسفات BOD و COD بسیار زیاد بوده و آنها برای پرورش ریزجلبک *S. quadricauda* بسیار مطلوب استفاده نموده است. میزان جامدات معلق و جامدات محلول به‌ترتیب ۷۶۹۷۹/۲ و ۲۵۴۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد. مقادیر نیترات و فسفات به‌ترتیب ۱۵۹۵/۲۴ و ۱۲/۷۳ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد. میزان BOD_5 و COD در پساب ملاس به‌ترتیب ۴۲۷۹۰ و ۱۳۶۱۵۶ میلی‌گرم بر لیتر اندازه‌گیری شد. میزان pH ۵/۹۲ و EC ۳/۹۷ میلی‌موهس بر سانتی‌متر بود. در پساب ملاس، جامدات معلق به طور کیفی شامل مواد آلی معلق و درصد اندکی از ذرات خاک و ماسه است. در خصوص جامدات محلول معلق بیشتر شامل نیترات‌ها و فسفات‌ها و کاتیون‌های سدیم، کلسیم یا منیزیم و آنیون‌های کلرید، سولفات و فسفات است. از نظر ترکیبات آلی پساب‌های ملاس‌دار شامل کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آلی، فنل‌ها، پروتئین‌ها، لیگنین‌ها، تانن‌ها، چربی‌ها و روغن‌هاست. طبق استانداردهای ملی و جهانی، پساب‌های با این میزان مواد جامد معلق از پساب‌های با آلودگی شدید طبقه بندی می‌شوند. همچنین از نظر مواد جامد محلول می‌توان این پساب‌های ملاس‌دار را به عنوان پساب‌های صنعتی در نظر گرفت. براساس استانداردهای جهانی و ملی نباید چنین پساب‌هایی در محیط زیست تخلیه شوند و نیاز به تصفیه یا پالایش دارند.

جدول ۲: میانگین (±خطای استاندارد) برخی مشخصات اندازه‌گیری شده پساب‌های خام ملاس (بدون رقیق سازی و دارای جامدات معلق) مورد استفاده در تحقیق حاضر (میلی‌گرم بر لیتر)

Table 2: Mean (±standard error) of some measured characteristics of raw molasses effluents (without dilution and with suspended solids) used in this research

Measuring properties (mg/L)	Raw molasses
Total Suspended Solid (TSS)	76979.2 ± 3748
Total Dissolved Solid (TDS)	2540.8 ± 127
Nitrate	1595.24 ± 79
Phosphate	12.73 ± 0.63
Biological Oxygen Demand (BOD)	42790 ± 2139
Chemical Oxygen Demand (COD)	136156 ± 6807
pH*	5.92 ± 0.39
EC (millimohs/cm)	3.97 ± 0.19

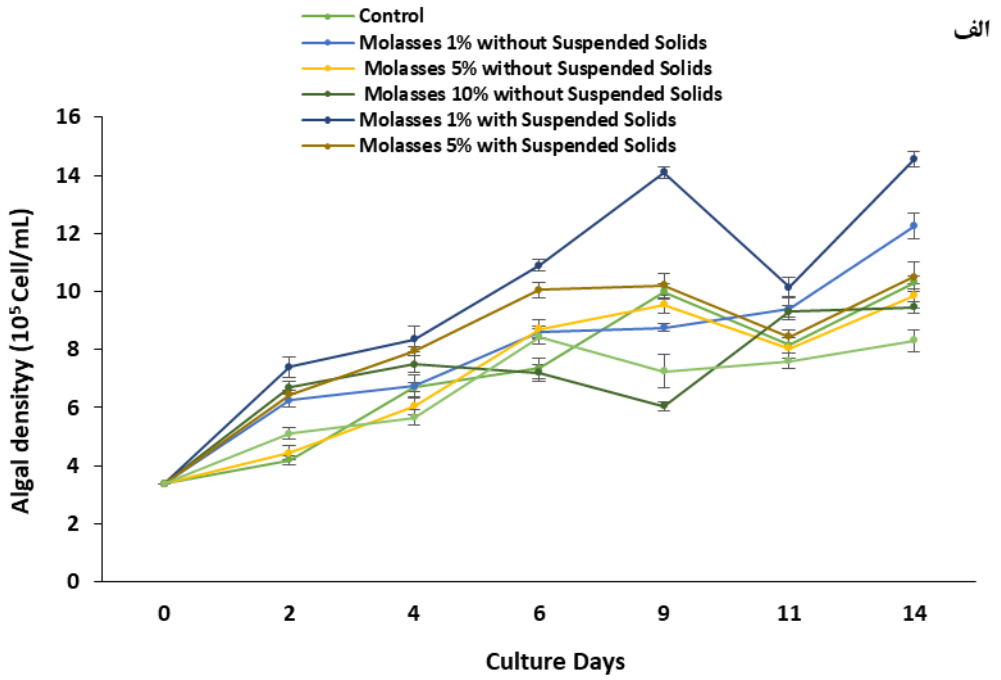
*بدون واحد اندازه‌گیری

*Without measurement unit

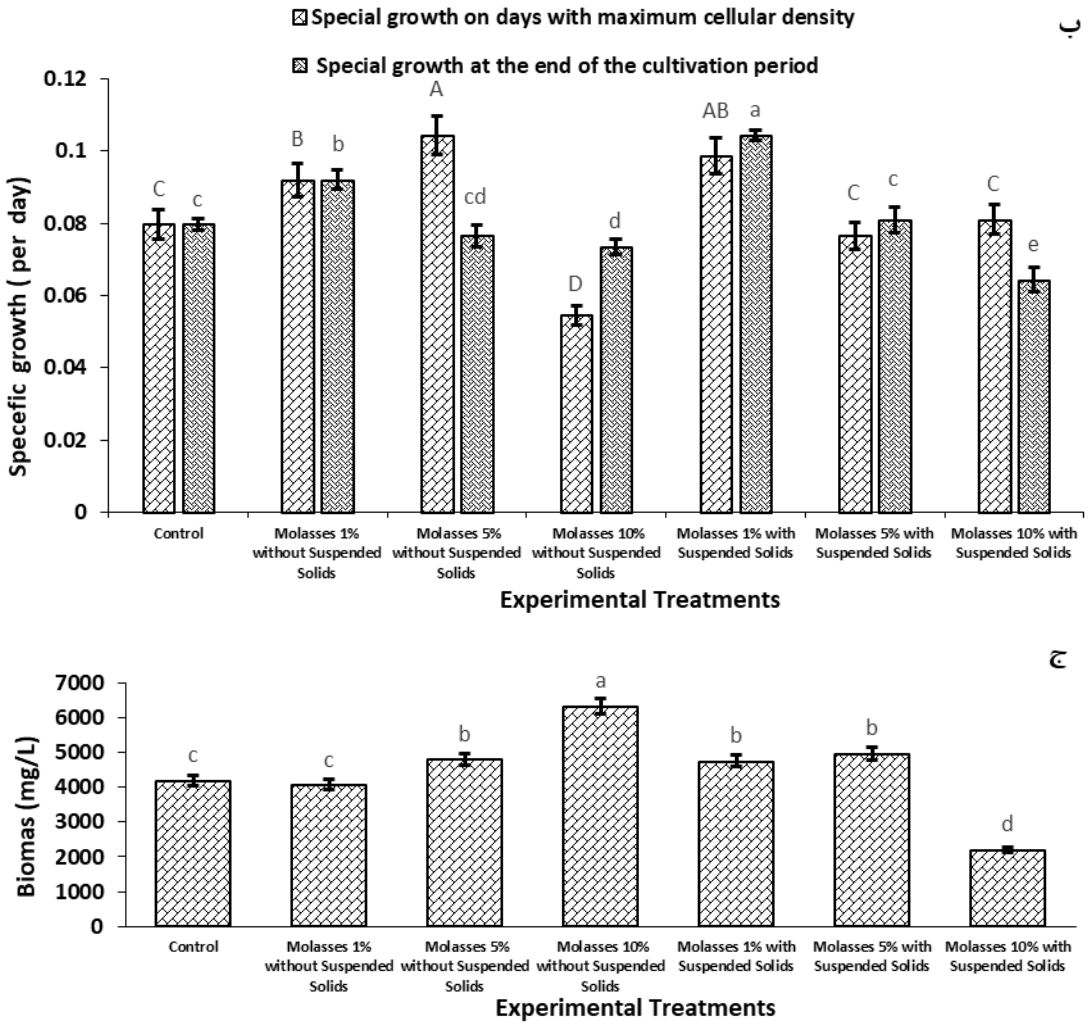
[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-14]

تراکم سلولی، میزان رشد ویژه و زیست‌توده جلبکی

نتایج مربوط به تراکم جلبک *S. quadricauda* طی روزهای پرورش داده شده در شکل ۱- الف نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تراکم سلولی ریزجلبک *S. quadricauda* برای تیمارهای مختلف آزمایش، شاهد، تیمارهای ملاس بدون جامدات معلق ۱، ۵ و ۱۰ درصد و ملاس دارای جامدات معلق ۱، ۵ و ۱۰ درصد به‌ترتیب ۱/۰۳×۱۰^۶، ۱/۲۲×۱۰^۶، ۱/۴۵×۱۰^۶، ۷/۲۵×۱۰^۵، ۱×۱۰^۶، ۹/۸۵×۱۰^۵ و ۱/۰۵×۱۰^۶ سلول بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. این مقادیر به‌ترتیب مربوط به روزهای ۱۴، ۱۴، ۱۴، ۱۴، ۱۱، ۱۴ و ۱۴ در دوره پرورش بود. بیشترین میزان تراکم سلولی پس از پایان آزمایش در روز ۱۴، در تیمار پساب ملاس ۱ درصد دارای جامدات معلق بود. به طورکلی، تیمارهای پساب ملاس دارای جامدات معلق ۱ و ۵ درصد و پساب ملاس بدون جامدات معلق ۱ درصد نسبت به تیمار شاهد (BBM) دارای تراکم سلولی بیشتری بود. میزان رشد ویژه محاسبه شده در تیمارهای مختلف آزمایشی در شکل ۱- ب نشان داده شده است. نتایج نشان داد که میزان رشد ویژه در انتهای روز ۱۴، دامنه‌ای از ۰/۱۰۴ - ۰/۰۶۴ در روز داشت که بیشترین آن در تیمار پساب ملاس ۱ درصد دارای جامدات معلق و کمترین آن در تیمار ۱۰ درصد دارای جامدات معلق به‌دست آمد. همچنین میزان رشد ویژه محاسبه شده برای روزهایی که حداکثر تراکم سلولی مشاهده شده است، در تیمارهای مختلف آزمایشی دامنه‌ای از ۰/۱۰۴ – ۰/۰۵۴ در روز داشته است. میزان زیست‌توده ریزجلبک *S. quadricauda* در تیمارهای مختلف آزمایشی در شکل ۱- ج نشان داده شده است. نتایج نشان داد که میزان زیست‌توده در تیمارهای مختلف دامنه‌ای از ۶۳۴۳/۷ - ۲۱۹۹/۱ میلی‌گرم بر لیتر داشت. بیشترین میزان زیست‌توده در تیمار پساب ملاس ۱۰ درصد بدون جامدات معلق و کمترین میزان زیست‌توده در تیمار پساب ملاس ۱ درصد دارای جامدات معلق به‌دست آمد. در غلظت کم (۱ و ۵ درصد) تأثیر جامدات معلق بر زیست‌توده قابل‌توجه نبود، اما در غلظت ۱۰ درصد تیمار بدون جامدات معلق زیست‌توده بیشتری داشت ($p<0/05$).



[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-14]



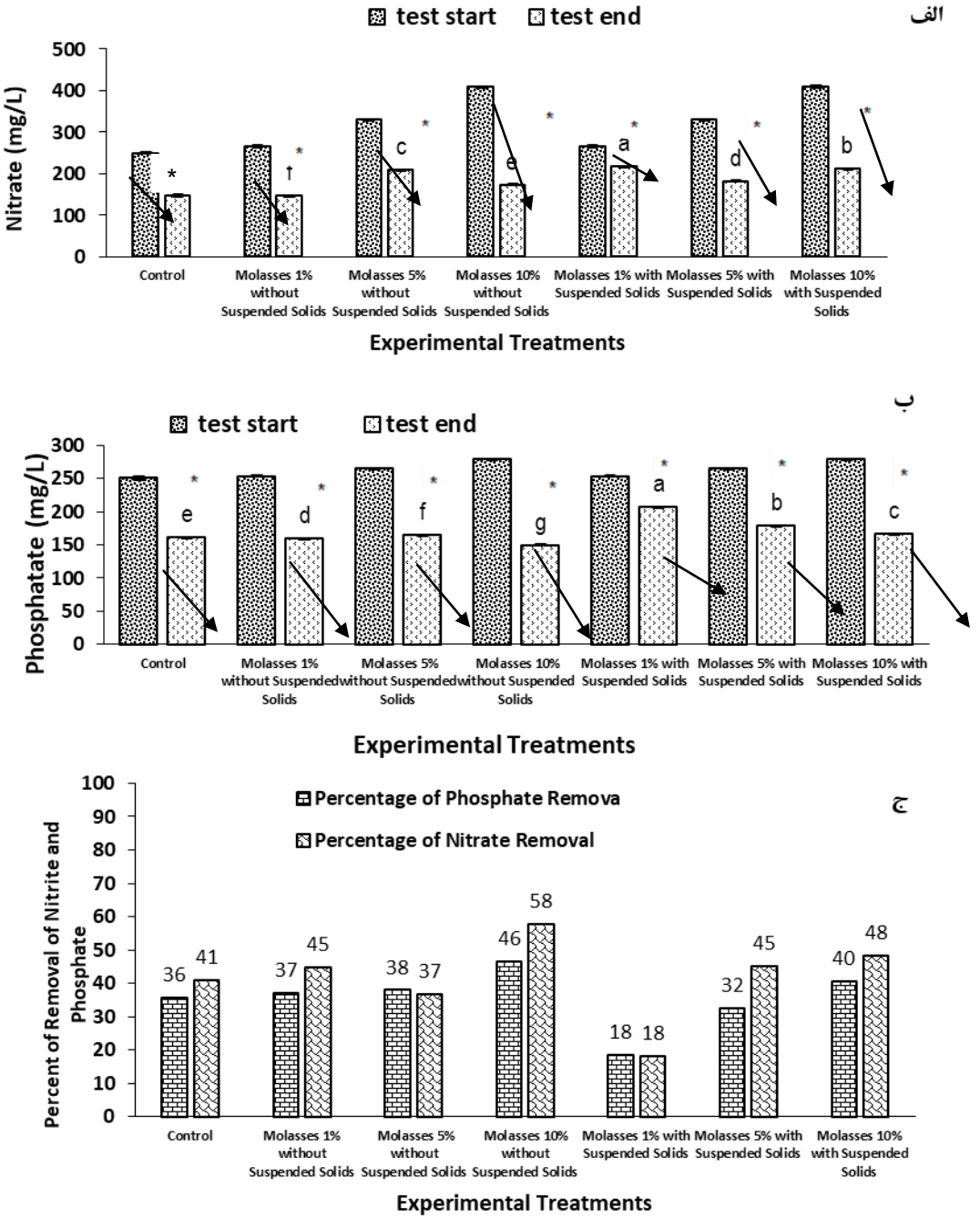
شکل ۱: میانگین (±خطای استاندارد) تراکم سلولی (الف)، میزان رشد ویژه (ب) و میزان زیست‌توده خشک (ج) ریزجلبک *Scenedesmus quadricauda*. میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف متفاوت بوده، از نظر آماری با آزمون دانکن معنی‌دار هستند ($p<0.05$).

Figure 1: Mean (±standard error) of cell density (a), specific growth rate (b) and dry biomass (c) of the microalgae *Scenedesmus quadricauda*. Means with at least one different letter are statistically significant by Duncan's test ($p<0.05$).

میزان تغییرات نیترات و فسفات

نتایج نشان داد که کاهش میزان نیترات از محدوده ۴۰۹/۵۲ - ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به محدوده ۲۱۲/۴۵ - ۱۴۷/۴۱ میلی‌گرم بر لیتر کاهش داشت (شکل ۲- الف). همچنین نتایج نشان داد که کاهش میزان فسفات از محدوده ۲۷۸/۳ - ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به محدوده ۲۰۶/۳۵ - ۱۴۹/۴ میلی‌گرم بر لیتر کاهش یافت (شکل ۲- ب). حذف نیترات و فسفات به طور معنی‌داری در تمام تیمارها انجام شد ($p<0/05$). بیشترین درصد حذف نیترات ۵۸ درصد و بیشترین درصد حذف فسفات در تیمار ملاس ۱۰ درصد ۴۶ درصد هر دو در تیمار ملاس ۱۰ درصد بدون جامدات معلق به‌دست آمد (شکل ۲- ج).

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-14]



شکل ۲: میانگین (±خطای استاندارد) تغییرات نیترات (الف)، تغییرات فسفات (ب) و درصد حذف فسفات و نیترات (ج) در پساب تیمارهای مختلف پس از پالایش زیستی به‌وسیله ریزجلبک *Scenedesmus quadricauda*. میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف متفاوت بوده، از نظر آماری با آزمون دانکن معنی‌دار هستند ($p<0.05$).

Figure 2: Mean (±standard error) of nitrate changes (a), phosphate changes (b), and percentage removal of phosphate and nitrate (c) in effluent of different treatments after bioremediation by the microalgae *Scenedesmus quadricauda*. Means with at least one different letter are statistically significant by Duncan's test ($p<0.05$).

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-14]

تغییرات BOD و COD

تغییرات BOD و COD تیمارهای مختلف در ابتدا و انتهای آزمایش در جدول ۳ ارائه شده است. درصد حذف BOD در تیمارهای ملاس دامنه‌ی از ۹۹/۱۹ – ۹۲/۳۷ درصد بود. بیشترین مقدار BOD پس از کشت در تیمار ملاس ۵ درصد دارای جامدات معلق و کمترین مقدارآن در تیمارهای ملاس ۵ درصد بدون جامدات معلق و ملاس ۱ درصد دارای جامدات معلق به‌دست آمد. بیشترین درصد حذف BOD مربوط به تیمار ملاس ۵ درصد بدون جامدات معلق (۹۹٪/۱۹) و کمترین درصد حذف BOD در تیمار ملاس ۱ درصد بدون جامدات معلق (۹۲/۳۷٪) حاصل شد. درصد حذف COD در تیمارهای ملاس دامنه‌ی از ۹۹/۴۶ – ۹۴/۰۵ درصد بود. بیشترین مقدار COD پس از کشت در تیمار ملاس ۱۰ درصد و کمترین مقدارآن در تیمار ملاس ۱ درصد بدون جامدات معلق به‌دست آمد. بیشترین درصد حذف COD در تیمار ملاس ۱۰ درصد بدون جامدات معلق (۹۹/46٪) و کمترین درصد حذف COD در تیمار ملاس ۱ درصد بدون جامدات معلق (۹۴/۰۵٪) اندازه‌گیری شد.

جدول ۳: میانگین (± خطای استاندارد) تغییرات BOD_5 و COD در تیمارهای مختلف ملاس پس از پالایش زیستی به‌وسیله ریزجلبک *Scenedesmus quadricauda*

Table 3: Mean (± standard error) of BOD5 and COD changes in different treatments after bioremediation by the microalgae *Scenedesmus quadricauda.*

	Treatments	Concentration (%)	Start of algal cultivation (mg/l)	End of algal cultivation (mg/l)	Removal rate (%)
BOD	Molasses effluent without suspended solid	1	427.9 ± 21.39	32.6 ± 1.63	92.37
		5	2139.5 ± 106.97	17.4 ± 0.87	99.19
		10	4279 ± 213.95	35.7 ± 1. 78	99.17
	Molasses effluent with suspended solid	1	524.6 ± 26.23	16.2 ± 0.81	96.91
		5	2616.3 ± 130.82	77.2 ± 3.86	97.05
		10	5309 ± 265.45	56.2 ± 2.81	98.94
COD	Molasses effluent without suspended solid	1	1311.6 ± 56.58	78.0 ± 3.9	94.05
		5	6540.8 ± 326.91	42.6 ± 2.13	99.35
		10	13272.2 ± 663.61	72.6 ± 3.63	99.45
	Molasses effluent with suspended solid	1	1361.5 ± 68.08	79.3 ± 3.97	94.17
		5	6807.8 ± 340.39	139.3 ± 6.7	97.95
		10	13615.6 ± 680.78	176 ± 8.8	98.71

بحث

پس از دوره ۱۴ روز کشت به‌ترتیب تیمارهای ملاس دارای جامدات معلق ۱ و ۵ درصد و ملاس بدون جامدات معلق ۱ درصد نسبت به تیمار شاهد دارای تراکم سلولی بیشتر و سایر تیمارها نسبت به تیمار شاهد دارای تراکم سلولی کمتری بودند. مشابه مطالعه حاضر، Farhadian و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که در کشت ریزجلبک سبز دریایی *Tetraselmis tetrahele* در ملاس ۱ درصد دارای بیشترین تراکم سلولی بود و نتیجه گرفتند که زیست‌توده ریزجلبک دریایی *T. tetrahele* در ملاس ۱ درصد بیشتر از غلظت رقیق ۰/۵ درصد تولید می‌شود و در مقایسه با سایر محیط‌های کشت در تیمارهای ملاس، زیست‌توده تولیدی بیشتری حاصل شد. در این تحقیق نتایج پرورش جلبک با مدل ترکیب خودپروردگی و دگرپروردگی (میکسوتروفیک) نشان داد که بیشترین مقدار زیست توده در تیمار ملاس ۱۰ درصد بدون جامدات معلق به‌دست آمد و روند تولید زیست‌توده به‌ترتیب با افزایش غلظت از ۱۰-۱ درصد در ملاس بدون جامدات معلق افزایشی بود. همچنین زیست‌توده تولیدی تیمارهای ملاس ۱ و ۵ درصد تقریباً با هم برابر و بیشتر از تیمار شاهد بود، اما در غلظت ۱۰ درصد ملاس دارای جامدات معلق مقدار زیست‌توده تولیدی با کاهش محسوس همراه بود که می‌توان یکی از دلایل احتمالی را به دلیل کاهش نفوذ نور به محیط کشت مرتبط داد. در واقع، جامدات معلق می‌توانند میزان نفوذ نور به ستون آب را

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-14]

کاهش داده و با توجه به کاهش فتوسنتز، زیست‌توده جلبکی را کاهش دهند. ریزجلبک‌ها که برای فتوسنتز به نور نیاز دارند، ممکن است به دلیل کمبود نور، رشد کمتری داشته باشند. این مسئله به‌ویژه در غلظت‌های بالای جامدات معلق یا در محیط‌های عمیق آب شدیدتر می‌شود (Boyd, 2020). جامدات معلق موجود در آب می‌توانند مشکلات جدی برای اکوسیستم‌های آبی ایجاد کنند. جامدات معلق اغلب در نتیجه فعالیت‌های انسانی (کشاورزی و آلودگی‌های صنعتی)، وارد آب می‌شوند که می‌توانند شفافیت آب را کاهش دهند، تنفس آبزیان را با مشکل مواجه کرده و حتی به برخی از آنها آسیب مستقیم وارد کنند. تحقیقات نشان داده‌اند که جامدات معلق نه‌تنها بر کیفیت فیزیکی آب بلکه بر زندگی موجودات ریز درون آب نیز تأثیر می‌گذارند. این ذرات می‌توانند با پوشاندن آبشش ماهی‌ها و سایر آبزیان، تنفس آنها را دشوار کنند. همچنین با جذب نور خورشید، مانع از فتوسنتز گیاهان آبزی می‌شوند و در نتیجه زنجیره غذایی را مختل می‌کنند (Bilotta and Brazier, 2008). همچنین،مطالعه و بررسی‌های آزمایشگاهی بر عملکرد ریزجلبک‌ها در ارتباط با نقش جامدات معلق می‌تواند مکمل برخی از مطالعات میدانی و بوم شناختی در اکوسیستم‌های آبی باشد. برای مثال، در مطالعه‌ای در مصب رود Jinjiang (چین)، افزایش غلظت جامدات معلق می‌تواند بر تولید مواد ترشحی جلبک‌ها تأثیر بگذارد و مشخص گردید که غلظت‌های مختلف جامدات معلق تاثیرات متفاوتی بر ترشح پلی‌ساکاریدها در دو گونه ریزجلبک *Chlorella pyrenoidosa* و *Microcystis aeruginosa* داشتند (Liu *et al.*, 2022). بنابراین، تغییرات در میزان جامدات معلق می‌تواند بر رشد و تکثیر جلبک‌ها و در نتیجه کل اکوسیستم تأثیر بگذارد. این مسئله به‌ویژه در غلظت‌های بالای جامدات معلق یا در محیط‌های عمیق آب تأثیر شدیدتری بر زیست‌توده خواهد داشت (Boyd, 2020). در این خصوص Almomani و Ormeci (۲۰۱۶) مطرح کردند که کاهش سرعت رشد می‌تواند دلایلی مختلف از جمله نفوذ نور به محیط کشت، تراکم جلبکی یا محدودیت دسترسی به کربن غیرآلی داشته باشد.

در کلیه تیمارها، کشت با مصرف نیترات و فسفات همراه بوده است. بیشترین درصد حذف نیترات در تیمار ملاس ۱۰ درصد بدون جامدات معلق (۵۸ درصد) و بیشترین درصد حذف فسفات در تیمار ملاس ۱۰ درصد (۴۸ درصد) اندازه‌گیری شد. در مطالعه Heydari و همکاران (۲۰۱۱) این نتیجه حاصل شد که *S. quadricauda* در تیمارهای غنی از نیتروژن رشد داشته است و این گونه مناسب تصفیه پساب‌های غنی از نیتروژن با توجه به رشد مناسب و بقاء بالاست. فرایند حذف نیترات و فسفات پساب‌ها با کشت ریز جلبک‌ها از جنس *Scenedesmus* در مطالعات متعددی گزارش شده است (Oswald and Gotass, 1995; Martinez *et al.*, 2000; Voltolina *et al.*, 2004; Wang and Lan, 2011; Arora *et al.*, 2021). ریزجلبک‌ها نیتروژن و فسفر پساب‌ها را برای سنتز ملکول‌های ذخیره انرژی آدنوزین تری فسفات و آدنوزین دی فسفات و محتوای ژنتیکی هسته مصرف می‌کنند. همچنین شکل‌های فسفات غیرآلی (ارتوفسفات، HPO_4^{2-} و $H_2PO_4^-$)، مورد علاقه سلول‌های ریزجلبک‌ها برای مصرف هستند که آنها را از طریق انتقال دهنده‌های فسفر در غشاء پلاسمای سلول جذب می‌کنند (Ahmed *et al.*, 2022). مقایسه نتایج درصد حذف نیترات و فسفات در غلظت‌های مختلف (شکل ۲– ج) بیانگر آن است که درصد حذف نیترات و فسفات در تیمارهای ملاس بدون جامدات معلق به طور محسوسی بیشتر از تیمارهای پساب ملاس دارای جامدات معلق است. بنابراین، می‌توان احتمال داد که حضور جامدات معلق از حذف بخشی از نیترات و فسفات جلوگیری کرده است. برای حذف بیشتر نیترات و فسفات در کشت با ریزجلبک‌ها، جداسازی جامدات معلق از محیط کشت در بهبود کارایی پالایش جلبکی، بسیار مهم و ضروری است.

میزان COD و BOD طی کشت‌های ترکیبی خودپروردگی و دگرپروردگی این تحقیق از ابتدا و انتهای آزمایش مورد اندازه‌گیری و ارزیابی قرار گرفت. بیشترین درصد حذف BOD (۹۹/۱۹٪) مربوط به تیمار پساب ملاس ۵ درصد بدون جامدات معلق و کمترین درصد حذف BOD (۹۲/۳۷٪) مربوط تیمار پساب ملاس ۱ درصد بدون جامدات معلق بود. بیشترین درصد حذف COD (۹۹/۴۶٪) مربوط به تیمار پساب ملاس ۱۰ درصد بدون جامدات معلق و کمترین درصد حذف COD (۹۴/۰۵٪) مربوط به تیمار پساب ملاس ۱ درصد بدون جامدات معلق اندازه‌گیری شد. Wang و

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-14]

Lan (۲۰۱۱) بیان کردند که افزایش زیست‌توده در پرورش مدل میگزوتروف بیش‌تر از پرورش مدل هتروتروف جلبک‌هاست که امکان دارد به علت دسترسی بیشتر به منبع کربن (CO_2) در پرورش میگسوتروف باشد. Nagarajan و همکاران (۲۰۱۹) نیز بیان کردند کاهش BOD و COD منوط به کاهش محتوای کربن است. جذب و مصرف کربن و مواد آلی نیز در ریزجلبک‌ها یک پدیده عمومی هست. ریزجلبک‌ها موجب حذف مواد آلی مثل اوره و مواد مغذی معدنی (نیترات و فسفات)، پساب هستند که به کاهش BOD و COD کمک می‌کند (Arora *et al.*, 2021). در بسیاری از سیستم‌های تصفیه طراحی شده، برای کاهش بار مواد آلی از همکاری بین ریزجلبک‌ها و باکتری‌ها همراه با هوادهی استفاده می‌کنند که جامدات معلق نقش مهمی بر افزایش میزان هوادهی، مصرف بیشتر انرژی و کاهش میزان تولید اکسیژن فتوسنتزی دارند که علت آن را می‌توان تا حدودی به کاهش نفوذ نور در آب و کاهش میزان فرایند نیتریفکاسیون آب نسبت داد (Foladori *et al.*, 2020). همچنین می‌توان بیان کرد که ریزجلبک‌ها در همکاری با سایر میکروارگانیسم‌ها (باکتری‌ها)، در پساب‌ها می‌توانند فلاک یا بیوفلاک تولید کنند که در تولید زیست‌توده و حذف جامدات معلق کمک می‌کند (Delrue *et al.*, 2016).

به طور کلی، نتایج نشان داد که زیست‌توده حاصل از ریزجلبک *S. quadricauda* توأم با کشت خودپروردگی و دگرپروردگی در پساب ملاس در مطالعه حاضر، دارای مزیت‌هایی شامل چرخه تولید مثل کوتاه، فتوسنتز بیشتر، راندمان مصرف مواد مغذی بیشتر و بهینه‌تر و پالایش زیستی پساب‌ها از طریق کاهش قابل ملاحظه نیترات، فسفات، رنگ، COD و BOD است.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه صنعتی اصفهان برای فراهم نمودن شرایط و امکانات لازم این تحقیق تشکر می‌گردد. از سرکار خانم مهندس نرگس رجایی، جناب آقایان دکتر ابراهیم متقی و دکتر سعید اسداله نیز صمیمانه تشکر قدردانی می‌گردد.

منابع

Ahmed, S.F., Mofijur, M., Parisa, T.A., Islam, N., Kusumo, F., Inayat. A., Badruddin, I.A., Khan, T.Y. and Ong, H.C., 2022. Progress and challenges of contaminant removal from wastewater using microalgae biomass. *Chemosphere*, 286:131656. DOI:10.1016/j.chemosphere.2021.131656

Almomani. F.A. and Ormeci, B., 2016. Performance of *Chlorella vulgaris*, *Neochloris oleoabundans*, and mixed indigenous microalgae for treatment of primary effluent, secondary effluent and centrate. *Ecology Engineering*, 95:280-289. DOI:10.1016/j.ecoleng.2016.07.046

Arora, K., Kaur, P., Kumar, P., Singh, A., Patel, S.K.S., Li, X. and Yang, Y.H., 2021. Valorization of wastewater resources into biofuel and value-added products using microalgal system. *Frontiers in Energy Research*, 250 P. DOI:10.3389/fenrg.2021.760583

Baird, R., Rice, E. and Eaton, A., 2017. Standard methods for the examination of water and wastewater. *American Public Health Association*, 1545 P.

Bilotta, G.S. and Brazier, R.E., 2008. Understanding the influence of suspended solids (SS) on water quality and aquatic biota. *Water Research*, 42(12):2849-2861. DOI:10.1016/j.watres.2008.03.018

Blonskaja, V. and Zub, S., 2009. Possible ways for post-treatment of biologically treated

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-14]

with molasses and beer wastewater. *Iranian Fisheries Science Journal*, 75(2):169-181. (In Persian)

Farhadian, O., Nezafatian, A. and Rostami, F., 2023. Microalgae in health and disease prevention. Isfahan University of Technology Press, Isfahan, Iran. 477 P. (In Persian)

Foladori, P., Petrini, S. and Andreottola, G., 2020. How suspended solids concentration affects nitrification rate in microalgal-bacterial photobioreactors without aeration. *Heliyon*, 6: e03088. DOI:10.2166/wst.2019.104

Fowler, D., Coyle, M., Skiba, U., Sutton, M.A., Cape, J.N., Reis, S., Sheppard, L.J., Jenkins, A., Grizzetti, B. and Galloway, J.N., 2013. The global nitrogen cycle in the twenty-first century. Philosophical Transactions of the Royal Society B. *Biological Sciences*, 368(1621):20130164. DOI:10.1098/rstb.2013.0164

Heydari, S., Farhadian, A. and Soofiani, M., 2011. Biomass production and removal of ammonia and nitrite from fish farm effluent using the green alga *Scenedesmus quadricauda*. *Environmental Science*, 37(59):15-28. (In Persian)

Huang, S., Chen, Y., Wang, J., Lao, A., Huang, H., Wang, Z., Luo, X. and Zheng, Z., 2024. Understanding the dynamics of Microcystis bloom: Unraveling the influence of suspended solids through proteomics and metabolomics approaches. *Science of the Total Environment*, 908:168079. DOI:10.1016/j.scitotenv.2023.168079

wastewater from yeast factory. Journal of Environmental *Engineering and Landscape Management*, 17:189-197. DOI:10.3846/1648-6897.2009.17.189-197

Boyd, C.E., 2020. Suspended solids, color, turbidity, and light. In: *Water Quality: An Introduction*, pp. 119-133.

Cordell, D., Rosemarin, A., Schroder, J. and Smit, A., 2011. Towards global phosphorus security: a systems framework for phosphorus recovery and reuse options. *Chemosphere*, 84, 747-758.

Dahiya, J., Singh, D. and Nigam, P., 2001. Decolourisation of molasses wastewater by cells of *Pseudomonas fluorescens* immobilised on porous cellulose carrier. *Bioresource Technology*, 78(1):111-114. DOI:10.1016/S0960-8524(01)00005-8

Delrue, F., Alvarez-Diaz, P.D., Fon-Sing, S., Fleury, G. and Sassi, J.F., 2016. The environmental biorefinery: Using microalgae to remediate wastewater, a win-win paradigm. *Energies*, 9 (3):132-151. DOI:10.3390/en9030132

Falkowski, P.G. and Raven, J.A., 2013. Aquatic photosynthesis. Princeton University Press, New Jersey, USA. 483 P.

Farhadian, O. and Heidari Goujani, B., 2020. Algae energy. Isfahan University of Technology Press, Isfahan, Iran. 246 P. (In Persian)

Farhadian, O., Sharifi Kheirabadi, F., Nezafatian, A., Peykan Heirati, F. and Rostami, F., 2022. Investigation of density, growth, and biochemical composition of the marine alga *Tetraselmis tetrathele* cultivated

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-14]

Kalyuzhnyi, G. and Murray, R.W., 2005. Ligand effects on optical properties of Codes nanocrystals. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109:7012-7021. DOI:10.1021/jp0451415

Kobya, M. and Delipinar, S., 2008. Treatment of the baker's yeast wastewater by electrocoagulation. *Journal of Hazardous Materials*, 154:1133-1140. DOI:10.1016/j.jhazmat.2007.11.038

Liu, J., Han, X., Xing, H., Nan, Y., Lin, J., He, J., Chen, S., Wei, Y. and Guo, P., 2022. Effects of suspended particles on exopolysaccharide secretion of two microalgae in Jinjiang Estuary (Fujian, China). *Journal of Marine Science and Engineering*, 10(2): 277. DOI:10.3390/jmse10020277

Martinez, M.E., Sanches, S., Jimenes, J.M., Yousfi, F.E. and Munoz, L., 2000. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalgae *Scenedesmus obliqus*. *Bioresource Technology*, 73:263-272. DOI:10.1016/S0960-8524(99)00121-2

Nagarajan, D., Kusmayadi, A., Yen, H.W., Dong, C.D., Lee, D.J. and Chang, J.S., 2019. Current advances in biological swine wastewater treatment using microalgae-based processes. *Bioresource Technology*, 289:121718. DOI:10.1016/j.biortech.2019.121718

Omori, M. and Ikeda, T., 1984. Methods in Marine Zooplankton Ecology. *John Wiley*, New York. 332 P.

Oswald, W.J. and Gotass, H.B., 1995. Photosynthesis in sewage treatment. *Journal of the Sanitary Engineering Division American Society of Civil Engineers*, 122:73-105.

Sigee, D.C., 2005. Freshwater microbiology: Diversity and dynamic interaction of microorganisms in the aquatic environment. John Wiley and Sons, UK. 542 P.

Tam, N.F.Y. and Wong, Y.S., 1989. Wastewater nutrient removal by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus* sp. *Environmental Pollution*, 58:19-34. DOI:10.1016/0269-7491(89)90202-6.

Torabian, A. and Mahjuri, M., 2004. Investigation of the status of industrial and production wastewater in Tehran industries. *Water and Wastewater*, 15(2):34-44. (In Persian).

Voltolina, D, Gmez-Villa, H. and Correa, G., 2004. Biomass production and nutrient removal in semicontinuous cultures of *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae) in artificial wastewater, under a simulated day-night cycle. *Vie Milieu*, 54:21-25.

Wang, B. and Lan, C.Q., 2011. Biomass production and Nitrogen and phosphorus removal by the green alga *Neochloris oleoabundans* in simulated wastewater and secondary municipal wastewater effluent. *Bioresource Technology*, 102:5639–5644. DOI:10.1016/j.biortech.2011.03.059

Yalcin, T., Naz, M. and Turkmen, M., 2006. Utilization of different nitrogen sources by cultures of *Scenedesmus acuminatus*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 6:123-128.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-14]