Archive of SID

ISSN: 2476-6917; Modares Journal of Biotechnology. 2019;10(2):183-186

Nitrate and Phosphate Removal from Treated Dairy Wastewater using Microalgae Chlorella salina

ARTICLE INFO

Article Type
Original Research

Authors
Teymouri S.A.[1] *MSc,*
Habibi A.[1] *MSc,*
Pajoum Shariati F.[1] *PhD,*
Nematzadeh Gh.A.[2] *PhD,*
Delavari Amrei H.*[3] *PhD*

How to cite this article
Teymouri S.A, Habibi A, Pajoum Shariati F, Nematzadeh Gh.A, Delavari Amrei H. Nitrate and Phosphate Removal from Treated Dairy Wastewater using Microalgae Chlorella salina. Modares Jour-nal of Biotechnology. 2019;10(2): 183-186.

ABSTRACT

Effluent from dairy industry has a high amount of nutrients such as nitrate and phosphate. In this work nitrate and phosphate removal from treated dairy wastewater in the presence of organic load was investigated. For this purpose, 400ml of synthetic wastewater was inoculated with 2ml of seed culture of microalgae Chlorella salina. During the growth period, nitrate and phosphate concentration in synthetic wastewater was measured for 1, 3, 5 and 7 days with the standard method (APHA). Results showed that removal of nitrate and phosphate by the microalgae from synthetic wastewater was 100% and 95%, respectively. Also, maximum biomass production in 7 days of experiment was about 0.7g/L. These values showed that Chlorella Salina could be potential candidates by showing their intrinsic merit for removal of phosphate and nitrate from dairy wastewater and can be used in treated outlet refinement from the dairy treatment plant to be used before entering to the environment.

Keywords Chlorella salina; Nitrate removal ; Treated Dairy Wastewater; Phosphate Removal; Microalgae

[1]Chemical Engineering Department, Technical Engineering Faculty, Science & Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2]Genetic & Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Sari, Iran
[3]Chemical Engineering Department, Technical Engineering Faculty, University of Bojnord, Bojnord, Iran

**Correspondence*
Address: University of Bojnord, 4 Kilometer of Esfarayen Road, Bojnord, North Khorasan, Iran. Postal Code: 9453155111
Phone: +98 (58) 32201000
Fax: -
h.delavari@ub.ac.ir

Article History
Received: August 24, 2017
Accepted: February 17, 2018
ePublished: June 20, 2019

CITATION LINKS

[1] Study of the feasibility and using of waste water in irrigation using nanotechnology [Dissertation] [2] Efficiency of the wastewater treatment system of a dairy plant and ways to improve it [3] Recognizing dairy industry wastewater and study of its various biological purification methods [4] Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga Scenedesmus obliquus [5] Cultivation of Chlorella vulgaris JSC-6 with swine wastewater for simultaneous nutrient/COD removal and carbohydrate production [6] Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, Scenedesmus sp [7] Phosphate and nitrate removal from municipal wastewater by algae Scenedesmus obliquus cultivation and production of algal biomass [8] Effect of alginate structure and microalgae immobilization method on orthophosphate removal from wastewater [9] Effect of immobilized microalgal bead concentrations on wastewater nutrient removal [10] Nanofiltration as tertiary treatment for the reuse of dairy wastewater treated by membrane bioreactor [11] Experimental study for growth potential of unicellular alga Chlorella pyrenoidosa on dairy wastewater: An integrated approach for treatment and biofuel production [12] Standard methods for examination of water and waste water [13] Removal of phosphate by microalgae from municipal wastewater effluents: Lab experiment [14] Wastewater inorganic N and P removal by immobilized Chlorella vulgaris [15] Nutrient removal from tannery effluent by free and immobilized cells of marine microalgae chlorella salina [16] Culture of microalga Botryococcus in livestock wastewater

Copyright© 2019, TMU Press. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.

www.SID.ir

Archive of SID

حذف نیترات و فسفات از پساب لبنی سنتزی توسط ریزجلبک *کلرلا سالینا*

سیدابوالقاسم تیموری MSc
گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی مهندسی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
عدنان حبیبی MSc
گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی مهندسی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
فرشید پژوم‌شریعتی PhD
گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی مهندسی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
قربانعلی نعمت‌زاده PhD
پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
حسین دلاوری‌امرئی* PhD
گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه بجنورد، بجنورد، ایران

چکیده
پساب خروجی از صنایع لبنی مقادیر بالایی از مواد مغذی همچون نیترات و فسفات دارند. در این کار حذف نیترات و فسفات از پساب لبنی سنتزی توسط ریزجلبک *کلرلا سالینا* در حضور بار آلی مورد بررسی قرار گرفته است. به این منظور، ۲میلی‌لیتر از ریزجلبک *کلرلا سالینا* در شرایط آزمایشگاهی به ۴۰۰میلی‌لیتر پساب سنتزی لبنی اضافه شد. طی دوره رشد غلظت نیترات و فسفات موجود در پساب سنتزی برای روزهای ۱، ۳، ۵ و ۷ با روش استاندارد (APHA) اندازه‌گیری شد. براساس نتایج حاصل حذف نیترات و فسفات توسط *کلرلا سالینا* به‌ترتیب برابر ۱۰۰٪ و ۹۵٪ بوده است. همچنین بیشترین میزان زیست‌توده تولیدی در طول هفت روز برابر با ۰/۷گرم بر لیتر به دست آمده است. از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که این ریزجلبک توانایی بالایی برای کاهش نیترات و فسفات از پساب سنتزی لبنی را دارد و می‌توان در پالایش فاضلاب خروجی از تصفیه‌خانه‌های لبنی قبل از ورود به محیط زیست مورد استفاده قرار گیرد.
کلیدواژه‌ها: *کلرلا سالینا*، حذف نیترات، پساب سنتزی لبنی، حذف فسفات، ریزجلبک

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۶/۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۸
*نویسنده مسئول: h.delavari@ub.ac.ir

مقدمه

فاضلاب های صنعتی فاضلاب‌هایی هستند که از صنایع مختلف حاصل می‌شوند و نسبت به نوع صنایع، ترکیبات مختلفی دارند و وقتی وارد دریاها می‌شوند باعث آلودگی آب و مرگ آبزیان می‌شوند[1]. بدون شک پساب‌های حاصل از صنعت لبنیات به‌علت مواد تشکیل‌دهنده آن دارای مقادیر بالایی از مواد مغذی همچون نیترات و فسفات هستند[2]. به همین دلیل مطالعات و تحقیقات گسترده‌ای روی تصفیه پساب‌های لبنی انجام شده و در حال انجام است؛ تاکنون روش‌های مختلفی از جمله اکسیداسیون شیمیایی، جذب سطحی، فرآیند غشایی، ترسیب شیمیایی، تبادل یونی و غیره برای جذب این آلاینده‌ها مورد توجه قرار گرفته است؛ به علاوه این که استفاده از ریزجلبک برای تصفیه فاضلاب‌های تصفیه‌شده که حاوی یون‌های نیترات و فسفات است، به‌عنوان یک مرحله تصفیه بیولوژیک مورد بررسی قرار گرفته است[3]. در طول سالیان اخیر، میکروجلبک‌ها کاربردهای گسترده‌ای در زندگی بشر پیدا کرده‌اند[4]. *وان* و همکاران روی فاضلاب حیوانی با سه غلظت مختلف، میزان حذف نیترات و COD را بررسی کردند و نتیجه بر این شد که میکروجلبک *کلرلا ولگاریس* در فاضلاب سوم که غلظت COD، نیتروژن به‌ترتیب ۱۰۶۴ و ۸۶/۱ میلی‌گرم بر لیتر بوده توانسته ۹۱% نیتروژن حذف کند و در پساب اول بیشترین حذف COD با غلظت ۳۶۶۵میلی‌گرم بر لیتر با درصد حذف ۷۷% را داشته است در این کار میزان نیتروژن اولیه در پساب برابر ۲۶۴/۸میلی‌گرم بر لیتر بوده است[5]. *لی* و همکاران با استفاده از ریزجلبک سندسموس توانستند مواد نیتراته موجود در پساب را حذف کنند و اعلام کردند که این ریزجلبک توانایی زیستن و جذب مواد را با سیستم پرورش دارد. این مطالعه در غلظت‌های مختلفی از فاضلاب شهری انجام شده است[6]. از دیگر مطالعات می‌توان به بررسی قابلیت حذف نیترات و فسفات از پساب شهری توسط میکروجلبک *سندسموس آبلیکوس* (*Senedesmus obliquus*) اشاره نمود که نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد، این گونه جلبکی طی دوره کشت ۱۵روزه توانست ۱۰۰% نیترات و ۱۰۰% فسفات را حذف نماید. در این پژوهش غلظت ورودی نیترات ۲۸/۲۸ و فسفات ۱۷/۴میلی‌گرم بر لیتر بوده است[7]. از این رو، هدف مطالعه حاضر بررسی کارآیی و میزان رشد ریزجلبک *کلرلا سالینا* در جذب مواد مغذی پساب خروجی از تصفیه‌خانه‌های لبنی (شبیه‌سازی‌شده) بود.

مواد و روش‌ها

تهیه و کشت ریزجلبک: در مطالعه تجربی حاضر ریزجلبک مورد استفاده گونه‌ای از *کلرلا سالینا* (*Chlorella Salina*) بود که از مرکز زیست‌فناوری و ژنتیک طبرستان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تهیه شد. به‌منظور تهیه میزان کافی از ریزجلبک به‌منظور استفاده در مراحل بعدی کار از محیط کشت BG11 استفاده شد[6, 8]. همچنین در تمامی آزمایشات از دو لامپ مهتابی سفید با شدت نوری ۳۵۰۰لوکس به‌منظور نوردهی در سطح ارلن مایر تحت شرایط یکسان دمایی (۳۳±۳°C) و هوادهی با استفاده از پمپ هوا Hailea ACO-208 در تمام طول دوره استفاده شده است[9].

تهیه پساب سنتزی: فاضلاب سنتزی مورد استفاده در این تحقیق با توجه به میزان مواد مغذی موجود در فاضلاب تصفیه‌شده خروجی از بیوراکتور غشایی در تصفیه‌خانه‌های صنایع لبنی تهیه شد[10, 11]. غلظت نیترات، فسفات و بار آلی در این فاضلاب لبنی سنتزی به‌ترتیب ۳۰، ۲۰ و ۹۰میلی‌گرم بر لیتر در نظر گرفته شده است. به‌منظور تهیه پساب مورد نظر به میزان ۰/۲۴گرم گلوکز، ۰/۰۳۸گرم آمونیوم نیترات و ۰/۰۲۴گرم آمونیوم فسفات به یک لیتر آب مقطر افزوده شد[11].

روش‌های آنالیز: اندازه‌گیری وزن خشک سلولی (گرم بر لیتر) از طریق سانتریفیوژکردن ۱۰میلی‌لیتر به‌مدت ۳۰دقیقه و با سرعت ۱۰۰۰۰دور بر دقیقه انجام شد و پس از آن در آون در دمای ۱۰۵°C به‌مدت ۴۰دقیقه خشک شد[12]. میزان نیترات و فسفات نیز با استفاده از روش‌های اندازه‌گیری نوری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ۱۸۰۰ (شیمادزو؛ ژاپن) در فواصل زمانی دو روز به دست آمده است. لازم به ذکر است که روش اندازه‌گیری نیترات و فسفات از کتاب روش‌های استاندارد آب و فاضلاب (روش ۱-۳۵۲ برای نیترات و روش ۳-۳۵۲ برای فسفات) اقتباس شده است[12].

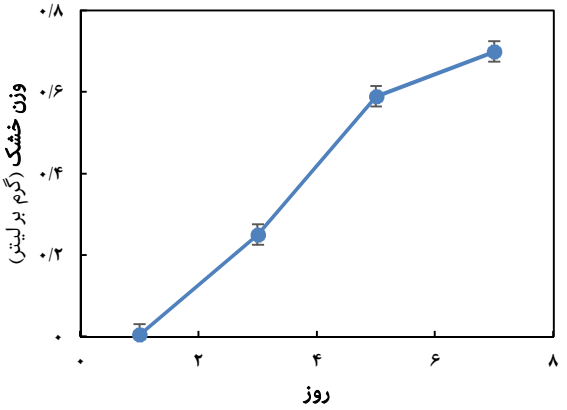
نتایج و بحث

رشد ریزجلبک: نمودار ۱ نشان‌دهنده تغییرات وزن خشک ریزجلبک با تغییرات زمان است. میزان وزن خشک با توجه به گذشت زمان در پساب سنتزی لبنی افزایش می‌یابد، به‌طوری که بیشترین وزن

www.SID.ir

Archive of SID

خشک ۰/۷گرم بر لیتر در طی ۷ روز کشت است. همان‌طور که در نمودار مشاهده شد با کاهش مواد مغذی (نیترات و فسفات) موجود در پساب شبیه‌سازی‌شده، مقدار رشد سلولی (زیست‌توده تولیدی) کاهش می‌یابد که با نتایج تحقیق *ابوالحسنی* و همکاران مطابقت داشت[6]. نتایج تحقیقات *احمدپور* و همکاران نشان داد که کاربرد ریزجلبک در حذف فسفات از پساب تاثیرگذار بود. حذف مواد مغذی توسط سلول‌های ریزجلبکی مطابق با تراکم سلولی و فعالیت متابولیکی‌شان و شرایط محیطی یوده و به نتایج این تحقیق نزدیک است[13]. تلقیح ریزجلبک‌ها به محیط کشت جدید (پساب لبنی شبیه‌سازی‌شده) توام با بروز استرس برای سلول‌های ریزجلبکی است و معمولاً آنها نیازمند زمان برای آداپتاسیون، رفع استرس، تنظیم فعالیت متابولیکی خود هستند[14]. همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده شد به‌دلیل بالابودن مواد مغذی در روزهای ابتدایی پرورش به‌علت استرس ایجادشده میزان سرعت رشد نسبت به روزهای بعدی کمتر بوده است.



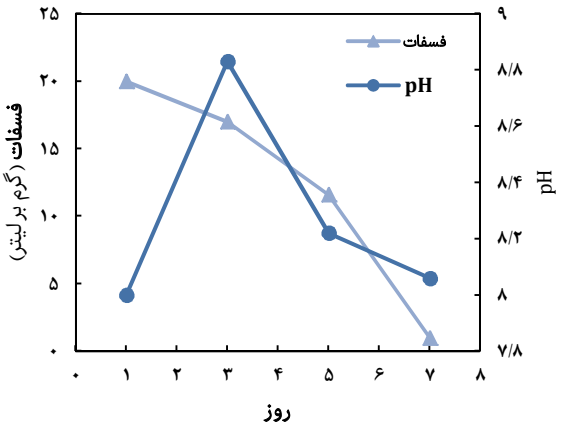
نمودار ۱) تغییرات وزن خشک *کلرلا سالینا* برحسب تغییرات زمان

حذف مواد مغذی: نمودار ۲ داده‌های به‌دست‌آمده از میزان غلظت نیترات و pH بر حسب زمان را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده شد ریزجلبک *کلرلا سالینا* توانست طی ۷ روز نیترات را به‌طور کامل از پساب شبیه‌سازی‌شده حذف کند. با افزایش مصرف نیترات توسط میکروجلبک، pH تا روز سوم افزایش یافته و بعد از کاهش روند حذف نیترات، pH کاهش پیدا کرده است. با توجه به این که اصولاً جلبک قلیایی است و با مصرف نیترات توسط میکروجلبک و تولید اکسیژن در سیستم pH زیاد شد.

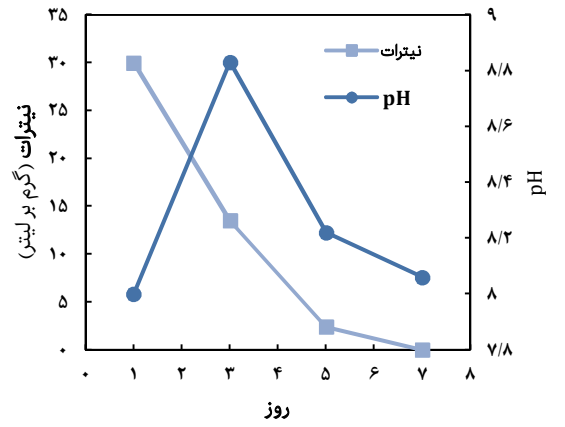
نمودار ۳ نشان‌دهنده میزان تغییرات غلظت فسفات و pH با تغییرات زمان است. همان‌گونه که نمودار ۳ نشان می‌دهد، غلظت فسفات با توجه به گذشت زمان در فاضلاب سنتزی لبنی کاهش پیدا می‌کند به‌طوری که کمترین غلظت فسفات یک‌میلی‌گرم بر لیتر در روز هفتم رخ داده که نشان‌دهنده حذف ۹۵% فسفات توسط ریزجلبک *کلرلا سالینا* است. هنگامی که شیب حذف فسفات زیاد شد روند pH هم به همان تناسب بیشتر شده است.

در این پژوهش برای ریزجلبک *کلرلا سالینا* فرم نیتروژن و فسفری که مستقیماً جذب می‌شوند (نیترات و فسفات) ترجیح داده شده است. همان‌طور که در نمودارهای ۲ و ۳ نشان داده شد، نیترات و فسفات تقریباً به‌طور کامل از پساب سنتزی توسط ریزجلبک *کلرلا سالینا* حذف شد. در مطالعات مشابه انجام‌شده، *ابوالحسنی* و همکاران نشان دادند که جلبک *سندسموس آبلیکوس* در پساب شهری (نیترات ۲۸/۲۸میلی‌گرم بر لیتر و فسفات ۱۷/۴میلی‌گرم بر لیتر) قادر به حذف ۱۰۰% نیترات و ۹۸% فسفات طی ۱۵ روز کشت بوده است[9]. *کوتاری* و همکاران اعلام کردند که گونه *کلرلا پیرنویدوزا* (*Chlorella pyrenoidosa*) توانست ۴۹% میزان نیترات و ۸۳% فسفات را از پساب لبنی طی ۱۰ روز کشت حذف کرد (نیترات اولیه: ۱۴/۳میلی‌گرم بر لیتر و فسفات اولیه: ۳/۴میلی‌گرم بر لیتر). *جایسودا* و همکاران از ریزجلبک *کلرلا سالینا* برای تصفیه پساب چرم استفاده کردند که درصد حذف نیترات طی ۹ روز کشت برابر با ۶ فسفات طی این دوره کشت به‌طور کامل از پساب حذف شد (نیترات: ۷۰میلی‌گرم بر لیتر و فسفات: ۸میلی‌گرم بر لیتر) [15]. در حالی که در پژوهش حاضر ریزجلبک *کلرلا سالینا* تحت شایط محیطی مناسب توانست نیترات و فسفات را به‌ترتیب ۱۰۰% و ۹۵% از پساب حذف کند. نتایج مشابهی در درمان فاضلاب لبنی با استفاده از جلبک بوتریوکاکوس (Botryococcus) با مصرف عناصر نیتروژن و فسفر از اجزای پساب به دست آمده است[16].

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به نبود پساب واقعی برای انجام آزمایشات تکمیلی اشاره کرد. علاوه بر استفاده از پساب واقعی، پیشنهاد می‌شود محققان در پژوهش‌های بعدی میزان کاهش COD را نیز مورد بررسی قرار دهند.



نمودار ۲) منحنی کاهش غلظت نیترات و pH برحسب روز توسط *کلرلا سالینا*



نمودار ۳) منحنی کاهش غلظت فسفات و pH برحسب روز توسط *کلرلا سالینا*

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر ریزجلبک *کلرلا سالینا* توانست در یک بازه هفت‌روزه نیترات را به‌طور کامل و فسفات را تا ۹۵% از پساب لبنی سنتزی حذف کند. همچنین در این مدت میزان قابل توجهی زیست‌توده جلبکی تولید شده است. با توجه به ارزش زیست‌توده

www.SID.ir

Archive of SID

جلبکی در سال‌های اخیر و استخراج برخی از مواد پرارزش از ریزجلبک‌ها می‌توان گفت استفاده از پساب لبنی به‌عنوان یک محیط مغذی ارزان قیمت نه‌تنها باعث تولید مقدار قابل توجهی زیست‌توده می‌شود بلکه باعث حذف آلاینده‌های زیست‌محیطی همچون نیترات و فسفات خواهد شد.

تشکر و قدردانی: از همکاری ارزشمند سرکار خانم *کبیر نتاج* به جهت همکاری‌های لازم در کلیه مراحل آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می نماییم. همچنین از راهنمایی و کمک کارشناسان آزمایشگاه محیط زیست و انرژی واقع در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه بجنورد کمال تشکر را داریم.

تاییدیه‌اخلاقی: مقاله حاضر توسط همه نویسندگان تایید شده است. همچنین این مقاله در نشریه دیگری به زبان فارسی، انگلیسی یا زبان دیگری چاپ نشده یا به‌طور همزمان برای نشریه دیگری ارسال نشده است.

تعارض منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: سیدابوالقاسم تیموری (نویسنده اول)، پژوهشگر اصلی (۲۰%)؛ عدنان حبیبی (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر کمکی (۲۰%)؛ فرشید پژوم‌شریعتی (نویسنده سوم)، تحلیلگر آماری (۲۰%)؛ قربانعلی نعمت‌زاده (نویسنده چهارم)، روش‌شناس (۲۰%)؛ حسین دلاوری‌امرئی (نویسنده پنجم)، نگارنده بحث (۲۰%)

منابع مالی: پژوهش حاضر منبع مالی نداشته است.

منابع

1- Eskandari M. Study of the feasibility and using of waste water in irrigation using nanotechnology [Dissertation]. Tehran: Academic Center for Education of Tarbiat Modares University; 2011. [Persian]

2- Mesdaghinia AR, Nouri J, Mahvi AH, Vaezi F, Naddafi K, Ansarizadeh M. Efficiency of the wastewater treatment system of a dairy plant and ways to improve it. J Sch Public Health Inst Public Health Res. 2010;7(4):69-78. [Persian]

3- Ebrahimi A, Najafpour Gh. Recognizing dairy industry wastewater and study of its various biological purification methods. 3rd Specialized Conference on Environmental Engineering. Tehran: University of Tehran; 2009. [Persian]

4- Martínez ME, Sánchez S, Jiménez JM, El Yousfi F, Muñoz L. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga Scenedesmus obliquus. Bioresour Technol. 2000;73(3):263-72.

5- Wang Y, Guo W, Yen HW, Ho SH, Lo YC, Cheng CL, et al. Cultivation of Chlorella vulgaris JSC-6 with swine wastewater for simultaneous nutrient/COD removal and carbohydrate production. Bioresour Technol. 2015;198:619-25.

6- Xin L, Hong-Ying H, Jia Y. Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, Scenedesmus sp. LX1, growing in secondary effluent. New Biotechnol. 2010;27(1):59-63.

7- Abolhasani MH, Hosini SA, Ghorbani R, Vince O. Phosphate and nitrate removal from municipal wastewater by algae Scenedesmus obliquus cultivation and production of algal biomass. J Aquat Ecol. 2016;5(4):33-9. [Persian]

8- Zamani N, Noshadi M, Amin S, Niazi A, Ghasemi Y. Effect of alginate structure and microalgae immobilization method on orthophosphate removal from wastewater. J Appl Phycol. 2012;24(4);649-56.

9- Tam NFY, Wong YS. Effect of immobilized microalgal bead concentrations on wastewater nutrient removal. Environ Pollut. 2000;107(1);145-51.

10- Andrade LH, Mendes FDS, Espindola JC, Amaral MCS. Nanofiltration as tertiary treatment for the reuse of dairy wastewater treated by membrane bioreactor. Sep Purif Technol. 2014;126:21-9.

11- Kothari R, Pathak VV, Kumar V, Singh DP. Experimental study for growth potential of unicellular alga Chlorella pyrenoidosa on dairy wastewater: An integrated approach for treatment and biofuel production. Bioresour Technol. 2012;116:466-70.

12- APHA, AWWA, WEF. Standard methods for examination of water and waste water. Washington DC: American Public Health Association Publication; 2000.

13- Ahmadpour N, Sayadi MH, Falahi Kapoorchali M, Rezaee MR. Removal of phosphate by microalgae from municipal wastewater effluents: Lab experiment. Modares J Biotechnol. 2015;6(2):49-54. [Persian]

14- Tam NFY, Lau PS, Wong YS. Wastewater inorganic N and P removal by immobilized Chlorella vulgaris. Water Sci Technol. 1994;30(6):369-74.

15- Jaysudha S, Sampathkumar P. Nutrient removal from tannery effluent by free and immobilized cells of marine microalgae chlorella salina. Int J Environ Biol. 2013;4(1):21-6.

16- Shen Y, Yuan W, Pei Z, Mao E. Culture of microalga Botryococcus in livestock wastewater. Trans ASABE. 2008;51(4):1395-400.

www.SID.ir