

The Treatment of Municipal Wastewater by *Chlorella. sorokiniana* pa.19 Using Magnesium-Aminoclay Nanomaterial

Masoumeh Panbehkar Bisheh , Hasan Amini Rad *

Department of Environmental Engineering, Faculty of Civil Engineering, Babol Noshirvani University of Technology, Babol, Iran.

ABSTRACT: Microalgae, as unicellular eukaryotic aquatic microorganisms, can treat various urban and industrial wastewater types. Due to the high cost of synthesis of culture medium on an industrial scale, wastewater is used as a cheap and accessible culture medium. Recent advances in the field of nanoengineering have facilitated the application of nanotechnology in wastewater treatment. As a relatively new field, nanomaterials engineering has proposed effective solutions for most technical problems in microalgae biodegradation. This research aimed to experimentally investigate the effect of amino-clay-magnesium nanomaterial on the growth of native microalgae *Chlorella. sorokiniana* pa.19 biomass in the sewage culture medium of Sari city. In this regard, the effect of the concentration of magnesium-amino clay nanomaterial on biomass dry weight, specific growth rate, ammonia, and phosphate removal in an urban sewage culture medium was investigated. X-ray diffraction (XRD) analysis, scanning electron microscopy (FE-SEM) on the nanomaterial, and atomic force microscopy (AFM) analysis were performed on the microalgae. Biomass dry weight values, specific growth rate, ammonia, and phosphate removal efficiency are 16.67, 43.01, 98.33, and 96.87%, respectively, at 28 °C, 2800 lux radiation intensity, and 0.2 grams per liter nano magnesium-amino clay material was observed. At a low concentration of magnesium-amino clay nanomaterial, a quantitative and qualitative increase in the biomass of *Chlorella. sorokiniana* pa.19 microalgae was observed, and at concentrations higher than the optimal dose, it caused a decrease in the growth rate of the species.

Review History:

Received: Mar. 14, 2023

Revised: Mar. 28, 2024

Accepted: Feb. 06, 2025

Available Online: Mar. 30, 2025

Keywords:

Microalgae

Wastewater

Magnesium-Amino clay Nanomaterial

XRD

FE-SEM

1- Introduction

The increase in population, agricultural and economic activities will lead to the pollution of water resources in developed and developing countries, and the unwanted production of all kinds of industrial, urban, and agricultural wastewater [1]. The direct discharge of raw sewage into receiving environments has become a serious environmental threat. Therefore, any pollution must be treated before the wastewater is discharged into the ecosystem. The usual methods of wastewater treatment (aerobic, anaerobic, physical, and chemical, removing nitrogen and phosphorus) are used to reduce the amount of nutrients in wastewater. However, despite the removal efficiency of 10 to 93%, these methods require equipment with high energy consumption, the tertiary treatment process, and the production of high amounts of sludge. Due to sludge treatment, energy consumption occupies almost 50% of the wastewater treatment area and is not economically sustainable [2]. The usual wastewater treatment methods are not entirely sustainable from an environmental point of view, as the wastewater produced from these centers does not meet the issue of water reuse according to the country's environmental standards. Biological treatment of urban wastewater is an

environmental approach to preserve nutrients and store them in biomass and recover these valuable resources in sludge treatment and return them to nature, that is, from the place of production to the place of production, which brings sustainability [3].

In the preliminary wastewater treatment, garbage, fat, seeds, and Suspended materials are separated in the primary sedimentation pond. In secondary treatment, suspended and dissolved organic matter is removed through a biological process. Various common treatment processes, such as activated sludge, trickling filters, and lagoons, are more commonly used for urban wastewater in the country, in which they are used to remove various pollutants from wastewater. Therefore, it is necessary to find a cost-effective and integrated wastewater treatment process to completely remove various pollutants (organic and inorganic) from wastewater [4]. Researchers have focused on a method of wastewater treatment based on microalgae for industrial, agricultural, and domestic wastewater. Oswald and Golueke first proposed the potential of microalgal bioremediation of wastewater in the early 1950s. Microalgae can use abundant sunlight as the energy they need to grow and remove pollutants simultaneously. In the existing process, kilowatt

*Corresponding author's email: h.a.rad@nit.ac.ir

hours of energy are usually required for one kilogram of biochemical oxygen (BOD). Cultivation of microalgae in the wastewater environment not only does not require oxygen supply, but also removes the produced carbon dioxide and also produces biofuel, and methane gas can be produced from its residues using anaerobic digestion. In other words, the produced microalgal biomass can be processed by anaerobic digestion to produce 1 kWh/kg BOD [5].

2- Materials and methods

2- 1- Wastewater properties

In this research, the wastewater entering the treatment plant of Sari City was used. After separating the solids from the output of the degreasing pond, the wastewater was used as a microalgae culture medium. Before use, it is necessary to autoclave the wastewater, because large populations of fermenting microorganisms and anaerobic bacteria in raw sewage compete with microalgae cells for nutrients. Therefore, the microalgae culture medium (urban sewage) was sterilized in an autoclave at 121 degrees Celsius for 15 minutes before inoculation, then 10% volume inoculation was performed under a laboratory hood to maintain sterile conditions. The characteristics of wastewater as a microalgae culture medium are presented in Table 1. Before each test, the solid particles in the wastewater were separated from the target sample using a centrifuge at 3500 rpm for 15 minutes.

3- Results and Discussion

3- 1- Investigating different concentrations of amino-clay-magnesium nanomaterial on the growth of microalgae

Magnesium aminoclay nanoparticles (MgAC-NPs) are 3-aminopropyl magnesium phyllosilicate (APTES). APTES and magnesium ions make this amine-rich compound through sol-gel reactions [6], [7]. The unique physicochemical properties of magnesium amino-clay nanomaterial have led to its use as a helpful additive in microalgae growth. High dissolution and low diffusion make the solution transparent. Magnesium Aminoclay nanomaterial with a positive cationic charge causes the absorption of harmful biological molecules [8]. Due to the presence of amines, MgAC causes faster absorption of CO₂ in aqueous environments [7]. MgAC is used to stimulate microalgae to obtain carbon dioxide faster. In addition, MgAC increases the amount of reactive oxygen species (ROS) in the environment, causing environmental stress and promoting microalgae growth in mixotrophic culture. The synthesis of magnesium aminoclay can be done by the sol-gel method at room temperature and away from complicated equipment.

This method is applicable on an industrial scale and has economic justification due to the low consumption of nanomaterials to increase the growth of microalgae and, as a result, the efficiency of nutrient removal from wastewater. In addition to this, magnesium aminoclay is removed from the environment after being absorbed by microalgae, and the very small amount that remains in the wastewater loses its effect with time. Therefore, the magnesium aminoclay nanomaterial is environmentally friendly.

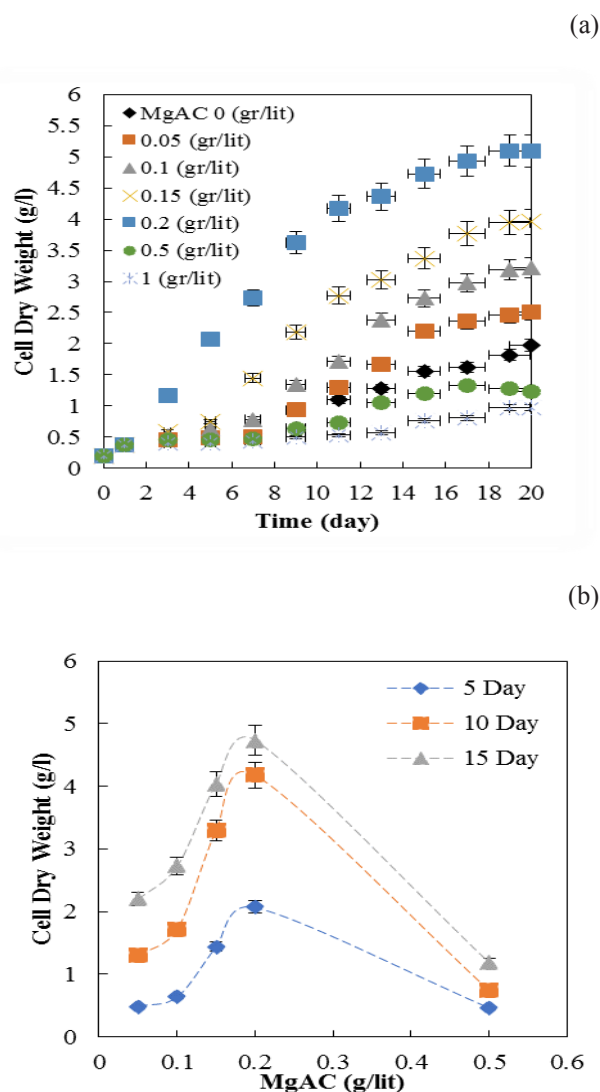


Fig. 1. The effect of magnesium-aminoclay nanomaterial on the growth of microalgae a) the dry weight of biomass, b) comparison of the dry weight of biomass at different times

4- Conclusions

The results of this research showed that the native microalgae *Chlorella sorokiniana* pa.91 has a very good potential to produce high biomass concentration and remove nutrients from wastewater under the influence of magnesium amino-clay nanomaterial. In this research, different concentrations of amino-clay-magnesium nanomaterials were investigated on microalgae growth rate, cell size, ammonia, and phosphate removal from wastewater. According to the obtained results, the appropriate concentration of amino-clay-magnesium nanomaterial was determined as 0.2 g/liter. The amount of cell growth rate, cell size, and removal of ammonia and phosphate was 0.186, 0.285-0.475 micrometers, and 98.33, 96.87% removal efficiency, respectively. These results show that small amounts of magnesium amino-clay nanomaterial with a positive effect on the indigenous

microalgae *Chlorella sorokiniana* pa. 91 are very suitable for the biological treatment of wastewater.

References

- [1] D. Kumar, T. Das, B.S. Giri, B. Verma, Preparation and characterization of novel hybrid bio-support material immobilized from *Pseudomonas cepacia* lipase and its application to enhance biodiesel production, *Renewable Energy*, 147 (2020) 11-24.
- [2] S. Maryjoseph, B. Ketheesan, Microalgae based wastewater treatment for the removal of emerging contaminants: A review of challenges and opportunities, *Case studies in chemical and environmental engineering*, 2 (2020) 100046.
- [3] M.Y. Alazaiza, S. He, D. Su, S.S. Abu Amr, P.Y. Toh, M.J. Bashir, Sewage water treatment using *Chlorella vulgaris* microalgae for simultaneous nutrient separation and biomass production, *Separations*, 10(4) (2023) 229.
- [4] L.B. Sukla, E. Subudhi, D. Pradhan, *The role of microalgae in wastewater treatment*, Springer, 2019.
- [5] H. Al-Jabri, P. Das, S. Khan, M. Thaher, M. AbdulQuadir, Treatment of wastewaters by microalgae and the potential applications of the produced biomass—a review, *Water*, 13(1) (2020) 27.
- [6] S. Kim, J.-e. Park, Y.-B. Cho, S.-J. Hwang, Growth rate, organic carbon and nutrient removal rates of *Chlorella sorokiniana* in autotrophic, heterotrophic and mixotrophic conditions, *Bioresource technology*, 144 (2013) 8-13.
- [7] X. Li, F. Cai, T. Luan, L. Lin, B. Chen, Pyrene metabolites by bacterium enhancing cell division of green alga *Selenastrum capricornutum*, *Science of the Total Environment*, 689 (2019) 287-294.
- [8] L.N. Nguyen, L. Labeeuw, A.S. Commault, B. Emmerton, P.J. Ralph, M.A.H. Johir, W. Guo, H.H. Ngo, L.D. Nghiem, Validation of a cationic polyacrylamide flocculant for the harvesting fresh and seawater microalgal biomass, *Environmental Technology & Innovation*, 16 (2019) 100466.



تصفیه فاضلاب شهری به وسیله ریز جلبک بومی *Chlorella.sorokiniana pa.19* با استفاده از نانو ماده آمینو کلی منیزیم

معصومه پنبه‌کارپیشه^۱، حسن امینی‌راد*

دانشکده عمران و محیط‌زیست، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، بابل، ایران.

تاریخچه داوری:

دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۳
بازنگری: ۱۴۰۳/۰۱/۰۹
پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۱۸
ارائه آنلاین: ۱۴۰۴/۰۱/۱۰

کلمات کلیدی:

ریز جلبک
فاضلاب
نانو ماده آمینو کلی منیزیم
XRD
FE-SEM

خلاصه: ریز جلبک‌ها به عنوان میکروارگانیسم‌های آبی تک‌سلولی یوکاریوتی می‌توانند برای تصفیه انواع مختلف فاضلاب شهری و صنعتی مورد استفاده قرار گیرند. امروزه به دلیل هزینه بالای سنتز محیط کشت در مقیاس صنعتی، می‌توان از فاضلاب به عنوان محیط کشت مناسب، مغذی، ارزان و قابل دسترس استفاده نمود. مهندسی نانومواد به عنوان رشته نسبتاً جدید، راه‌حل‌های مؤثری را برای بهینه‌سازی فرآیند تصفیه فاضلاب به وسیله ریز جلبک پیشنهاد داده است. هدف این پژوهش، بررسی تجربی تأثیر نانوماده آمینو کلی منیزیم بر رشد زیست‌توده ریز جلبک بومی *Chlorella.sorokiniana pa.19* در محیط کشت فاضلاب خانگی شهر ساری بود. در این راستا، تأثیر غلظت‌های مختلف نانو ماده آمینو کلی منیزیم سنتز شده بر وزن خشک زیست‌توده، نرخ رشد مخصوص، حذف آمونیاک و فسفات مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی مشخصات و کیفیت نانوماده سنتز شده از آنالیز طیف‌سنجی پراش اشعه ایکس (XRD)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (FE-SEM) بر روی نانو ماده و آنالیز میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) بر روی ریز جلبک *Chlorella.sorokiniana pa.19* انجام شد. مقادیر وزن خشک زیست‌توده، نرخ رشد مخصوص، بازده حذف آمونیاک و فسفات به ترتیب ۶۷/۱۶، ۴۳/۰۱، ۹۸/۳۳ و ۹۶/۸۷ درصد در دمای ۲۸ درجه سلسیوس، شدت تابش ۲۸۰۰ لوکس و مقدار ۰/۲ گرم در لیتر نانو ماده آمینو کلی منیزیم مشاهده شد. در غلظت کم نانوماده آمینو کلی منیزیم افزایش کمی و کیفی توده زیستی ریز جلبک مشاهده شد و غلظت‌های بالاتر از دوز بهینه سبب کاهش میزان رشد گونه شد. استفاده هم‌زمان نانوماده و ریز جلبک در تصفیه فاضلاب به عنوان روش دوست‌دار محیط زیست موجب بهبود وضعیت اکولوژیکی منابع آب، به ویژه با کاهش نیتروژن و فسفر در پساب فاضلاب خواهد شد.

۱- مقدمه

افزایش جمعیت، فعالیت‌های کشاورزی و اقتصادی، موجب آلوده شدن منابع آبی در کشورهای توسعه‌یافته و در حال توسعه شده و تولید ناخواسته انواع فاضلاب صنعتی، شهری و کشاورزی را در پی خواهد داشت [۱]. تخلیه مستقیم فاضلاب خام به محیط‌های پذیرنده، به تهدیدی جدی برای محیط‌زیست تبدیل شده است. از این رو، هر نوع آلودگی قبل از تخلیه پساب به اکوسیستم نیازمند تصفیه است. روش‌های معمول تصفیه فاضلاب (هوازی، بی‌هوازی، فیزیکی، شیمیایی و حذف نیتروژن - فسفر) بر اساس کاهش مقادیر مواد مغذی از فاضلاب مورد استفاده قرار می‌گیرند [۲]. با این حال، این روش‌ها با وجود راندمان حذف ۱۰ تا ۹۳ درصدی، نیازمند فضای زیاد، تجهیزات با مصرف انرژی بالا، فرآیند تصفیه ثلاثیه و تولید مقادیر بالای لجن بوده و از نظر اقتصادی پایدار نیستند [۳]. روش‌های معمول تصفیه فاضلاب

از لحاظ زیست‌محیطی، کاملاً ناپایدار بوده و پساب تولیدی از این مراکز مسئله استفاده مجدد از آب را طبق استانداردهای زیست‌محیطی تامین نمی‌نماید [۴]. تصفیه بیولوژیکی فاضلاب‌های شهری یک رویکرد زیست‌محیطی مناسب جهت حفظ مواد مغذی و ذخیره‌سازی آن در زیست‌توده‌ها و بازیابی این منابع با ارزش در تصفیه لجن و بازگشت آن به طبیعت یعنی از محل تولید به مکان تولید است و پایداری را به همراه دارد [۵].

در تصفیه مقدماتی فاضلاب، پس از جداسازی آشغال، چربی، دانه و مواد معلق در حوض ته‌نشینی اولیه؛ در تصفیه ثانویه، مواد آلی معلق و محلول از طریق فرآیند بیولوژیکی حذف می‌شوند. فرآیندهای تصفیه معمول مختلفی مانند لجن فعال، فیلتر چکنده و لاگون برای فاضلاب شهری بیشتر کاربرد دارد و در آنها برای حذف آلاینده‌های مختلف از فاضلاب استفاده شده است. از این رو، یافتن یک فرآیند تصفیه فاضلاب مقرون به صرفه و یکپارچه برای حذف کامل آلاینده‌های مختلف (آلی و معدنی) از فاضلاب ضروری

* نویسنده عهده‌دار مکاتبات: m.panbehkar@stu.nit.ac.ir



۸۶/۲۲٪ نیتروژن آمونیاکی و ۵۴/۷۲٪ از COD را حذف کنند [۱۰]. زو^۵ و همکاران (۲۰۱۷) با استفاده از ریزجلبک اسپرولینا موفق به حذف ۷۹٪ TN و ۹۳/۳٪ TP از فاضلاب شهری شدند [۱۱]. همچنین اسدی^۶ و همکاران (۲۰۱۹) در تصفیه اولیه بیشترین نرخ رشد 0.233 g/L.d و در تصفیه ثانویه نرخ رشد 0.185 g/L.d و راندمان بیش از ۸۰٪ حذف نیترات، فسفات، آمونیاک و COD در دمای ۲۸ درجه سلسیوس و شدت نور ۷۵۰۰ لوکس مشاهده کردند [۱۲].

پیشرفت‌های اخیر در حوزه مهندسی نانو، کاربرد نانوتکنولوژی در تصفیه فاضلاب را تسهیل کرده است. مهندسی نانومواد به عنوان رشته نسبتاً جدید، راه حل‌های مؤثری را برای اکثر مسائل فنی جهت تجزیه زیست‌محیطی با استفاده از ریزجلبک پیشنهاد داده است [۱۳]. به طور مثال افزایش انتقال نور با استفاده از نانومواد کربنی و نیز استخراج لیپید و افزایش راندمان برداشت ریزجلبک با استفاده از نانومواد مغناطیسی را می‌توان نام برد [۶]. همچنین نانو ذرات آمینوکی مغناطیسی کاتیونی (با توجه به خصوصیات منحصربه‌فرد فیزیکی و شیمیایی) برای تولید آستاکسانتین از ریزجلبک *H. phuvialis* مورد استفاده قرار گرفته است [۱۴]. کیم^۷ و همکاران (۲۰۲۰)، با مطالعه بر روی ریزجلبک *Microcystis.sp KW* و استفاده از نانو ماده آمینوکی منیزیم در راکتوری به قطر ۵ و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر در محیط کشت BG11، شدت تابش ۵۴۰۰ لوکس (معادل ۱۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) و در انکوباتور با سرعت ۱۲۵ دور بر دقیقه با دوره روشنایی به تاریکی ۱۲ به ۱۲ ساعت، افزایش ۲۰ درصدی زیست‌توده تولیدی را مشاهده کردند [۱۵]. ایکسینگ^۸ و همکاران (۲۰۲۰) با استفاده از نانوماده CeO_2 با اندازه متوسط ۱۷۶ نانومتر و ریزجلبک *Scenedesmus obliquus* حذف مواد مغذی $1.72/1 - 0.85/6\%$ از نیتروژن کل (TN) و $0.44/6 - 0.49/7\%$ از کل فسفر (TP) را از فاضلاب مشاهده کردند [۱۶]. واسیستا^۹ و همکاران (۲۰۲۰) رشد ریزجلبک *Chlorosarcinopsis MAS04* را با استفاده از فاضلاب تصفیه شده اولیه (PTWW) و فاضلاب تصفیه شده ثانویه (STWW) با نانوماده ZnO بررسی کردند. این مطالعه نشان داد که افزودن ۱۰ میلی‌گرم در لیتر ZnO-NPs به PTWW حذف COD، TN، TP و کل کربن آلی (TOC) را به ترتیب ۸۵٪، ۹۷/۵٪، ۸۷/۲٪ و ۸۲/۲٪ افزایش داد. همچنین، ریزجلبک‌های جدا شده در STWW با ۱۰ میلی‌گرم در لیتر

است [۶]. روش تصفیه فاضلاب بر اساس ریزجلبک برای انواع فاضلاب‌های صنعتی، کشاورزی و خانگی مورد توجه محققین قرار گرفته است. پتانسیل پاک‌سازی زیستی ریزجلبکی فاضلاب برای اولین بار توسط گلوکی و اوسلند^۱ در اوایل سال ۱۹۵۰ پیشنهاد شد. ریزجلبک‌ها می‌توانند از نور فراوان خورشید به عنوان انرژی مورد نیاز خود برای رشد و حذف هم‌زمان آلاینده‌ها استفاده کنند. در فرآیند موجود، معمولاً برای یک کیلوگرم اکسیژن بیوشیمیایی (BOD)، یک کیلووات ساعت انرژی مورد نیاز است. کشت ریزجلبک در محیط فاضلاب نه تنها نیازی به تأمین اکسیژن نداشته بلکه دی‌اکسیدکربن تولیدی را حذف نموده و همچنین موجب تولید سوخت زیستی می‌شود و از بقایای آن می‌توان با استفاده از هضم بی‌هوازی، گاز متان را نیز تولید نمود. به عبارت دیگر، زیست‌توده ریزجلبکی تولید شده را می‌توان با هضم بی‌هوازی برای تولید ۱ کیلووات ساعت / کیلوگرم BOD پردازش کرد [۷]. ریزجلبک‌ها، میکروارگانیسم‌های آبی تک‌سلولی یوکاریوتی هستند و می‌توانند برای تصفیه انواع مختلف فاضلاب با قابلیت تجمع‌پذیری، تجزیه و جذب بیولوژیکی مورد استفاده قرار گیرند. ریزجلبک‌ها برای رشد و نمو نیازمند مواد مغذی مانند نیتروژن، فسفر، دی‌اکسیدکربن و دیگر ترکیبات آلی می‌باشند و در محیط فاضلاب این ترکیبات به مقدار مناسب وجود داشته که با مصرف آنها نه تنها به تصفیه فاضلاب کمک می‌کنند موجب تولید زیست توده با ارزش غذایی بالا می‌شوند [۵]. محققان زیادی از انواع ریزجلبک در تصفیه فاضلاب استفاده کردند. اوروتیا^۲ و همکاران (۲۰۱۹) میزان حذف مس $(0.64/7\%)$ و (0.10%) Mo از پساب معدن به کمک *Chlorella vulgaris* در دمای 3 ± 20 درجه سلسیوس با استفاده از لامپ‌های فلورسنت سفید با شدت $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ در مدت زمان ۱۹۶ ساعت دست یافتند [۸]. الادل^۳ و همکاران (۲۰۱۸) از ریزجلبک *Chlorella sorokiniana* برای تصفیه فاضلاب شهری استفاده کردند. راندمان حذف $\text{NH}_3\text{-N}$ و $\text{NO}_3\text{-N}$ و فسفر کل (TP) به ترتیب ۷۴/۲٪، ۸۳/۳٪ و ۷۸٪ در مدت زمان ۱۰ روز و در دمای 1 ± 25 درجه سلسیوس و شدت نور $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ مشاهده کردند [۹]. لوگانادان^۴ و همکاران (۲۰۲۰) ظرفیت کنسرسیوم ریزجلبکی متشکل از *Chlorella variabilis* و *Scenedesmus obliquus* برای تصفیه پساب‌های لبنی مصنوعی رقیق‌شده در شرایط آزمایشگاهی را ارزیابی کردند. تحت شرایط بهینه ریزجلبک‌ها توانستند ۷۰/۱۹٪ فسفات،

5. Zhou
6. Asadi
7. Kim
8. Xiong
9. Vasistha

1. Oswald and Golueke
2. Urrutia
3. Eladel
4. Loganathan

جدول ۱. کیفیت جریان ورودی فاضلاب، واحد ته‌نشینی اولیه و ثانویه تصفیه‌خانه ساری

Table 1. The quality of the wastewater inflow, primary and secondary sedimentation unit of the Sari treatment plant

پارامتر (mg/L)	ورودی به تصفیه‌خانه	خروجی از حوض ته‌نشینی اولیه	خروجی از حوض ته‌نشینی ثانویه
غلظت TSS	۲۷۵	۱۰۲	۲
غلظت BOD ₅	۲۰۵	۱۳۶	۵
غلظت COD	۴۱۰	۲۷۲	۱۶
غلظت TN	۳۵	۳۵	۰/۸
غلظت TP	۳	۳	۱/۵

۲- روش تحقیق

۲-۱- خصوصیات فاضلاب

در این پژوهش، از فاضلاب ورودی به تصفیه‌خانه شهر ساری استفاده شد. پس از جداسازی جامدات از خروجی حوض چربی‌گیری، فاضلاب به‌عنوان محیط کشت ریزجلبک مورد استفاده قرار گرفت. قبل از استفاده، عمل اتوکلاو کردن فاضلاب امری ضروری است؛ زیرا جمعیت زیادی از میکروارگانیسم‌های تخمیرکننده و باکتری‌های بی‌هوازی موجود در فاضلاب خام با سلول‌های ریزجلبک برای مواد مغذی موجود در آن رقابت می‌کنند. بنابراین محیط کشت ریزجلبک (فاضلاب شهری) قبل از تلقیح سویه، ابتدا در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و به مدت ۱۵ دقیقه استریل شده، سپس برای حفظ شرایط استریل زیر هود آزمایشگاهی عمل تلقیح ۱۰٪ حجمی انجام شد. مشخصات فاضلاب به‌عنوان محیط کشت ریزجلبک در جدول ۱ ارائه شده است. قبل از هر آزمایش، ذرات جامد موجود در فاضلاب با استفاده از سانتریفیوژ با سرعت ۳۵۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه از نمونه موردنظر جدا شد.

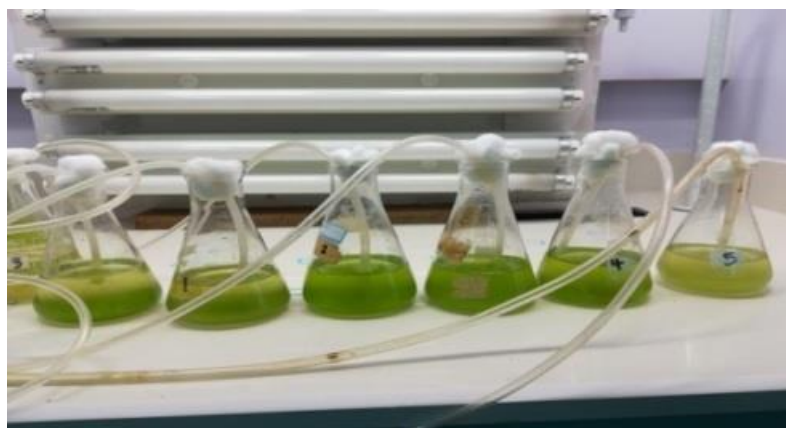
۲-۲- شرایط رشد ریزجلبک در فاضلاب

در پژوهش تجربی حاضر، نمونه ریزجلبک *Chlorella.sorokini*-*ana pa.19* از پساب تصفیه‌خانه لبنی گلا واقع در شهرک صنعتی آمل استخراج شد [۱۸]. به‌منظور تهیه بانک، ریزجلبک *Chlorella.soroki*-*niana pa.19* در محیط مایع و در ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری با حجم کاری ۱۰۰ میلی‌لیتر، در شیکر انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سلسیوس و با دور ۱۲۰ rpm با شدت نور تابیده بر سطح ارلن مایرها توسط لامپ به‌طور

ZnO-NPs حذف COD، TOC، TN و TP را به ترتیب ۸۰٪، ۸۵٪، ۸۱٪ و ۹۵٪ درصد نشان دادند [۱۷].

علی‌رغم تحقیقات گسترده در خصوص بهینه‌سازی شرایط کشت ریزجلبک‌ها، شرایط بهینه برای گونه‌های مختلف ریزجلبک‌ها می‌تواند متفاوت باشد. اخیراً ریزجلبک *Chlorella sorokiniana* pa.91 به‌عنوان یکی از گونه‌های جدید ریزجلبک برای تصفیه فاضلاب‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۱۸]. کیم و همکاران (۲۰۱۳) میزان رشد ریزجلبک *Chlorella sorokiniana* و راندمان حذف مواد مغذی در شرایط اتوتروفیک، هتروتروفیک و میکسوتروفیک را مورد بررسی قرار دادند و دریافتند شرایط هتروتروفیک از نظر رشد ریزجلبک و حذف نیتروژن و فسفر در مقایسه با شرایط اتوتروفیک و میکسوتروفیک برتری دارد و ریزجلبک تحت این شرایط می‌تواند برای استفاده در سیستم‌های تصفیه فاضلاب مفید باشد [۱۹].

در این پژوهش با سنتز نانو ماده آمینوکل‌منیزیم با استفاده از روش سل - ژل و به‌کارگیری آن تحت شرایط دما، میزان شدت تابش و سیکل هوادهی موردنظر در محیط کشت فاضلاب شهر ساری، کمیت و کیفیت زیست‌توده تولیدی ریزجلبک *Chlorella sorokiniana* pa.91 و حذف نوترینت از فاضلاب مورد بررسی قرار گرفت. با به‌کارگیری غلظت‌های مختلف نانو ماده آمینوکل‌منیزیم در محیط فاضلاب که پیش از این مورد توجه قرار نگرفته است، سعی در ارتقای بهره‌وری کلی فرآیند شد. بنابراین هدف پژوهش حاضر، بررسی رشد و کیفیت زیست‌توده ریزجلبک بومی *Chlorella sorokiniana* pa.91 به همراه حذف نوترینت از فاضلاب با تغییر شرایط ذکر شده بود.



شکل ۱. پایلوت کشت ریز جلبک

Fig. 1. Microalgae cultivation pilot



شکل ۲. سنتز نانو ماده آمینوکلای منیزیم

Fig. 2. Synthesis of magnesium-aminoclay nanomaterial

سانتریفیوژ جمع و پس از سه بار شستن با اتانول، خشک و در نهایت به پودر تبدیل گردید (شکل ۲). برای تأیید انحلال $MgAC$ در آب، مقدار ۱۰ میلی گرم $MgAC$ در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۵ دقیقه در حمام فراصوت قرار داده شد و بعد از حل شدن کامل، ظاهر شفاف آن مشاهده شد و در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس ذخیره گردید [۲۱].

۲-۴- آنالیزهای نانوماده آمینوکلای منیزیم

نانو ماده سنتز شده با استفاده از تکنیک‌های اسپکتروسکوپی و میکروسکوپی شامل طیف‌سنجی پراش اشعه ایکس (XRD) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (FE-SEM) مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام آنالیز FE-SEM نمونه ماده سنتز شده به آزمایشگاه بیم گستر تابان ارسال و آنالیز XRD توسط آزمایشگاه دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل با استفاده از دستگاه اشعه ایکس و مدل PW1730 (کمپانی PHILIPS) با استفاده از نرم‌افزار X'Pert Pro، با فلز Cu و طول موج تابش $K\alpha 1$

متوسط برابر ۲۸۰۰ لوکس (معادل ۵۱/۸ میکرو مول بر مترمربع بر ثانیه) و با دوره روشنایی- تاریکی ۱۲-۱۲ ساعت کشت داده شد؛ سپس در اواسط فاز لگاریتمی (بعد از یک هفته) محتویات ارلنها به یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس انتقال داده شد. به منظور بررسی پارامترهای موردنظر، ریزجلبک *Chlorella.sorokiniana* pa.19 در محیط مایع و در ارلن مایه‌های ۲۵۰ میلی لیتری با حجم کاری ۲۰۰ میلی لیتر در غلظت‌های مختلف نانو ماده و توان هوادهی ۲۰۰ میلی لیتر بر دقیقه در شرایط روشنایی- تاریکی ۱۲-۱۲ ساعت متصل به تایمر در فاضلاب کشت داده شد (شکل ۱).

۲-۳- سنتز نانو ماده آمینوکلای منیزیم

سنتز نانوماده آمینوکلای منیزیم با روش سل - ژل انجام شد [۲۰]. به منظور سنتز آمینوکلای منیزیم ($MgAC$)، هگزاهیدرات کلرید منیزیم به آمینوپروپیل تری اتوکسی سیلان (APTES) به همراه اتانول اضافه و به مدت یک شبانه روز هم زده شد. دوغاب سفید تشکیل شده توسط دستگاه

معادل ۱/۵۴۰۶ آنگستروم انجام شد. همچنین به منظور بررسی تغییرات اندازه سلولی ریزجلبک تحت تأثیر نانو ماده از آنالیز میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) توسط پژوهشکده نانو دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل استفاده شد.

۲-۵- روش‌های تحلیل و سنجش

سنجش شدت تابش به وسیله لوکس متر (LX-103 Lutron؛ تایوان) صورت گرفت. سنجش وزن خشک زیست‌توده (CDW) بر اساس قرائت یک روز در میان و چگالی نوری در طول موج ۶۸۰ نانومتر (OD) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (AJS-1500، Analytin، آلمان) و با استفاده از کالیبراسیون وزن خشک - جذب (رابطه (۱)) انجام شد [۱۲].

$$CDW = 1.824OD_{680} + 0.043, (R^2 = 0.9889) \quad (۱)$$

سرعت رشد ویژه (μ, d^{-1})، زمان دو برابر شدن سلول (T_D, d) و بازده تولید زیست‌توده ($P_B, gL^{-1}d^{-1}$) با استفاده از روابط (۲) تا (۴) [۲۲] به کمک قرائت جذب نمونه آماده شده توسط اسپکتروفتومتر انجام شد.

$$\mu = \ln(C_f / C_0) / (t_f - t_0) \quad (۲)$$

$$T_D = 0.6931 / \mu \quad (۳)$$

$$PB = (C_f / C_0) / (t_f - t_0) \quad (۴)$$

C_f و C_0 به ترتیب نشان دهنده غلظت اولیه و نهایی زیست‌توده (گرم بر لیتر) و t_f و t_0 به ترتیب نشان دهنده زمان اولیه و نهایی فاز رشد سلولی (روز) است.

به منظور اندازه‌گیری غلظت آمونیاک و فسفات، مایع رویی برای اندازه‌گیری غلظت مواد مغذی بعد از سانتریفیوژ و جداسازی زیست‌توده از آن مورد بررسی قرار گرفت. تمامی آزمایش‌ها طبق روش‌های استاندارد انجام شدند [۱۹]. نرخ و درصد حذف مواد مغذی توسط روابط (۵) و (۶) محاسبه شدند [۲۳].

$$(۵) \quad \text{نرخ حذف} = (C_f / C_0) / (t_f - t_0)$$

$$(۶) \quad \text{درصد حذف} = [C_0 - C_f / C_0] \times 100$$

تأثیر نانو ماده آمینوکی‌منیزیم بر زیست‌توده و پاسخ‌های نرخ رشد مخصوص (SGR)، وزن خشک (CDW) و حذف نوترینت از فاضلاب مورد بررسی قرار گرفت.

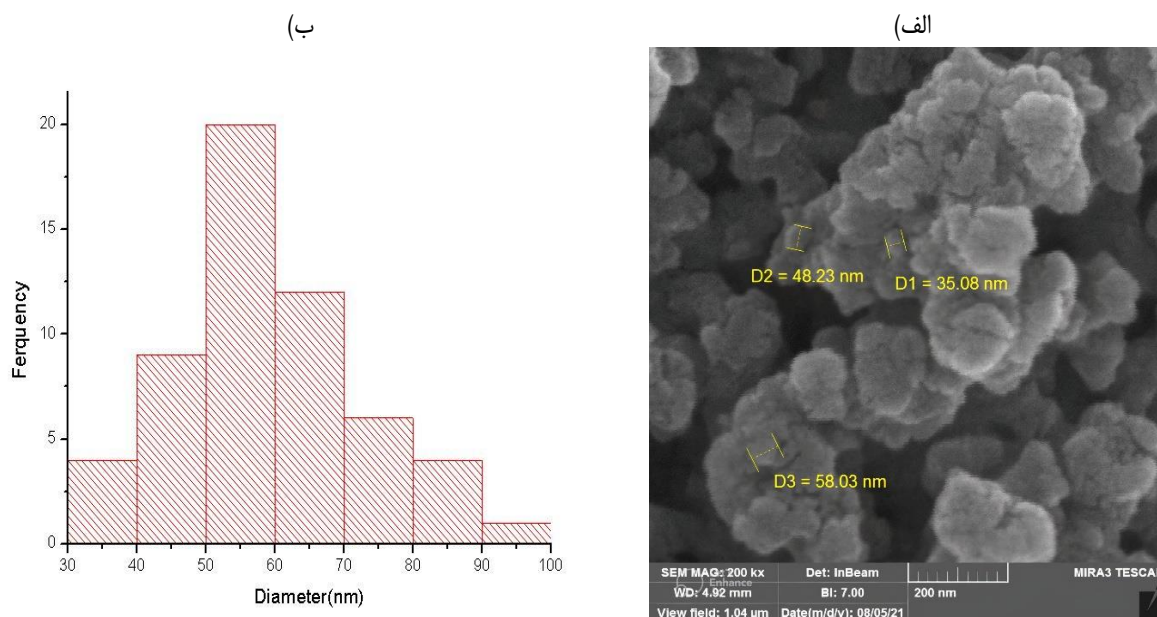
۳- نتایج و بحث

۳-۱- نتایج آنالیز نانو ماده آمینوکی‌منیزیم

از آنالیز FE-SEM برای مشاهده و بررسی ذرات بسیار ریز روی سطح سلول‌ها و ساختارهای کوچک استفاده می‌شود. تصاویر تهیه شده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی از نانومواد آمینوکی‌منیزیم (MgAC) در شکل ۳ ارائه شده است که با استفاده از آن می‌توان مورفولوژی سطح و هندسه نانو ذرات سنتز شده را مورد ارزیابی قرار داد.

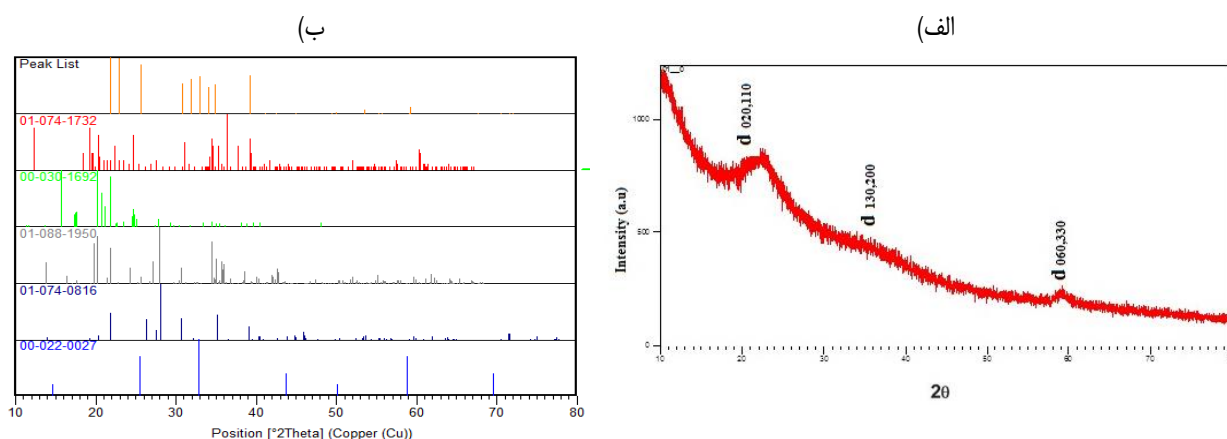
اندازه بیشتر ذرات تولیدی در محدوده ۶۰-۳۰ نانومتر می‌باشند. با توجه به آزمایش‌های سایر محققین که در بسیاری از آن‌ها قطر نانو ماده آمینوکی‌منیزیم در محدوده ۱۰۰-۳۰ نانومتر ذکر شده است [۲۴]، [۲۵]، [۲۳] اندازه نانو ذرات در این تحقیق در محدوده مناسب‌تری تولید گردید. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (FE-SEM) از آمینوکی‌منیزیم مجموعه‌ای از ساختار لایه‌ای با ابعاد گسترش یافته میکرونی را در جهات مختلف نشان می‌دهد. اندازه این لایه‌ها ۳۰ تا ۱۵۰ نانومتر با ضخامت ۲ تا ۴ نانومتر بوده و ممکن است به صورت تک یا چندین لایه وجود داشته باشند. نتایج آنالیز پراش اشعه ایکس (XRD) نانومواد سنتز شده در این تحقیق در شکل ۴ ارائه شده است. پیک اصلی نانو ماده MgAC در مقدار 2θ بین ۲۰ تا ۳۰ و معادل $21/83^\circ$ درجه با مقدار فاصله $4/07$ آنگستروم اتفاق افتاد (شکل ۴ الف).

در ساختار کریستالی نانو ماده MgAC ساختار اکسید شده مواد، هیدروکسید سیلیکات منیزیم، نیتريت دی‌سیکلوگزیلامین، هیدرات هیدروکسید سیلیکات منیزیم، سیلیکات منیزیم و استات آمونیاک منیزیم با مقدار استاندارد JCPDS به ترتیب $1732-01-074$ ، $1692-03-00$ ، $1950-08-01$ ، $016-074-01$ و $027-02-00$ مشاهده شد (شکل ۲ ب). بر اساس نتایج به دست آمده، نانو ماده MgAC تشکیل شده است. بنابراین، نتیجه‌گیری می‌شود که چارچوب آلی برای MgAC-NPs به عنوان یک ساختار سیلیکات آمینوپروپیل که در امتداد دو جهت پیوندهای



شکل ۳. تصاویر Fe-SEM نانو ماده سنتز شده آمینوکی منیزیم (MgAC)، (الف) با دقت ۲۰۰ n.m، (ب) توزیع اندازه ذرات

Fig. 3. Fe-SEM images of the synthesized magnesium-aminoclay nanomaterial (MgAC), a) with 200 nm accuracy, b) particle size distribution



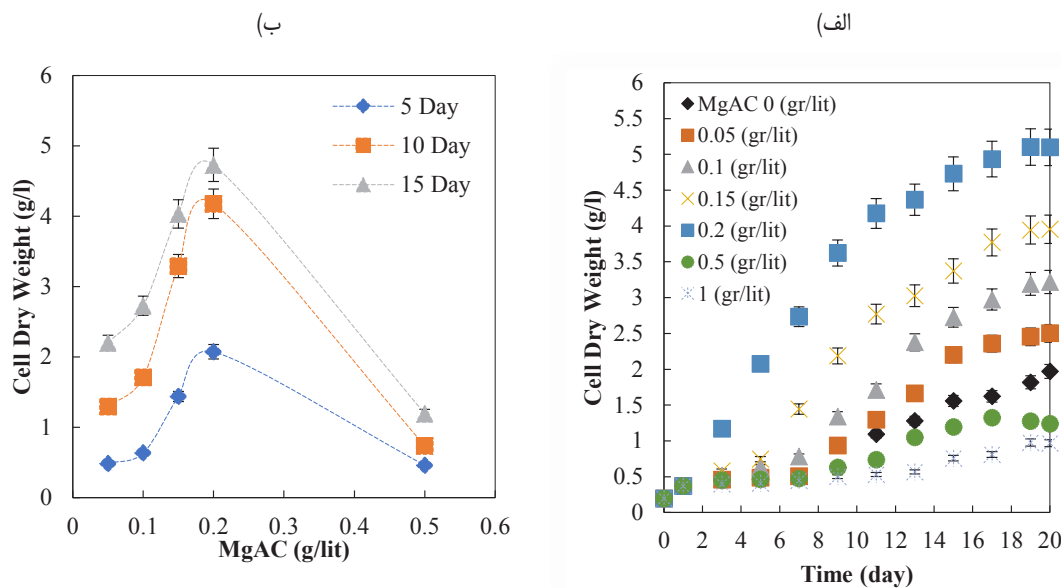
شکل ۴. نتایج XRD نانو ماده آمینوکی منیزیم (MgAC) (الف) ساختار تشخیص داده شده؛ (ب) فازهای تشخیص داده شده

Fig. 4. XRD results of magnesium-aminoclay nanomaterial (MgAC) a) recognized structure; b) detected phases

۳-۲- بررسی غلظت‌های مختلف نانو ماده آمینوکی منیزیم بر رشد ریزجلبک غلظت‌های مختلف نانوماده آمینوکی منیزیم در مقادیر ۰/۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۵ و ۱ گرم بر لیتر بر رشد ریزجلبک مورد بررسی قرار گرفت. نانو ذرات آمینوکی منیزیم به‌عنوان ۳-آمینوپروپیل منیزیم فیلوسیلیکات (APTES) شناخته می‌شوند. این ترکیب غنی از آمین بوده، با استفاده

1. aminopropyltriethoxysilane

هماهنگ هشت‌ضلعی MgO/OH بر روی اشکال بروسین در فرآیند اولیه به هم مرتبط است، تعیین می‌شود و نمایانگر ارتباط موفق مولکول‌های زیستی مانند ریزجلبک با نانوماده MgAC است. سایر محققان نیز نتایج مشابهی را گزارش کرده‌اند سایر محققان نیز نتایج مشابهی گزارش کردند [۲۶] - [۲۷] [۲۸] [۲۹].



شکل ۵. تأثیر نانو ماده آمینوکلای منیزیم بر رشد ریز جلبک (الف) وزن خشک زیست توده، (ب) مقایسه وزن خشک زیست توده در زمان های مختلف

Fig. 5. The effect of magnesium-aminoclay nanomaterial on the growth of microalgae a) the dry weight of biomass, b) comparison of the dry weight of biomass at different times

دوستدار محیط زیست است.

وزن خشک زیست توده تحت تأثیر نانوماده آمینوکلای منیزیم مثبت بود (شکل ۵ الف). افزایش مقدار نانو ماده آمینوکلای منیزیم تأثیر مثبت زیادی بر میزان رشد و انجام فرآیند فتوسنتز گذاشته، مقدار وزن خشک زیست توده به میزان ۵۳/۳٪ افزایش یافته است. با افزایش مقدار نانو ماده آمینوکلای منیزیم از ۰/۵ به ۰/۲ گرم در لیتر در شدت تابش ثابت ۲۸۰۰ لوکس (معادل ۵۱/۸ میکرو مول بر مترمربع بر ثانیه) و دمای ۲۸ درجه سانتی گراد، مقدار زیست توده خشک ریز جلبک از ۲/۲ گرم بر لیتر به ۴/۷۲۸ گرم بر لیتر در مدت زمان ۱۵ روز افزایش یافت (شکل ۵ الف). با مقایسه روند رشد ریز جلبک در روزهای مختلف تحت تأثیر غلظت های مختلف نانو ماده آمینوکلای منیزیم، بیشترین وزن خشک زیست توده در مقدار ۰/۲ گرم بر لیتر مشاهده شد (شکل ۵ ب). افزودن نانو ماده آمینوکلای منیزیم در مقادیر کمتر از ۰/۵ گرم در لیتر، موجب افزایش رشد ریز جلبک خواهد شد و در مقادیر بالاتر از ۰/۵ گرم در لیتر با توجه به پتانسیل زتای منفی ریز جلبک و پتانسیل زتای مثبت نانو ماده، جذب الکترواستاتیکی اتفاق افتاده و لخته شکل می گیرد؛ در نتیجه ریز جلبک ته نشین شده و آماده برداشت خواهد بود [۲۴]. نانوماده آمینوکلای منیزیم به دلیل توزیع ذرات با اندازه کوچک و اثر انحلال شفاف محیط کشت، موجب جذب سریع تر دی اکسید کربن از محیط کشت شده، با تبدیل به بی کربنات،

از ماده APTES و یون های منیزیم از طریق واکنش های سل-ژل ساخته می شود [۲۶]، [۳۰]. خواص فیزیکی-شیمیایی بی نظیر نانوماده آمینوکلای منیزیم موجب شده است تا از آن به عنوان یک افزودنی مفید در رشد ریز جلبک ها استفاده شود [۳۱]. انحلال بالا و انتشار در سطح کم، موجب شفافیت محلول می شود. نانوماده آمینوکلای منیزیم با بار کاتیونی مثبت موجب جذب مولکول های بیولوژیکی مضر می شود [۲۵]. MgAC به دلیل وجود آمین ها، موجب جذب سریع تر CO₂ در محیط های آبی می شود [۳۲]. از MgAC برای تحریک ریز جلبک در دریافت سریع تر دی اکسید کربن استفاده می شود. علاوه بر این، MgAC میزان اکسیژن فعال (ROS) محیط را افزایش داده، با ایجاد استرس محیطی موجب رشد ریز جلبک در کشت میکسوتروفیک می شود [۳۳]. سنتز آمینوکلای منیزیم با روش سل-ژل در دمای اتاق و به دور از تجهیزات پیچیده قابل انجام است [۳۴]. با توجه به مصرف کم نانو ماده برای افزایش رشد ریز جلبک و در نتیجه افزایش راندمان حذف نوترینت از فاضلاب، این روش در مقیاس صنعتی قابل اجرا و توجیه اقتصادی دارد. علاوه بر این آمینوکلای منیزیم بعد از جذب توسط ریز جلبک از محیط خارج شده، مقدار بسیار ناچیزی که در فاضلاب می ماند بعد از گذشت زمان تأثیر خود را از دست می دهد. بنابراین، نانوماده آمینوکلای منیزیم

1. Reactive oxygen species

جدول ۲. پارامترهای سنتتیک رشد ریزجلبک بومی *Chlorella sorokiniana* pa.91 در مقادیر مختلف نانو ماده آمینوکلئ منیزیم

Table 2. The synthetic parameters of the growth of *Chlorella sorokiniana* pa.91 in different amounts of magnesium-aminoclay nanomaterial

مقدار نانوماده آمینوکلئ منیزیم (گرم در لیتر)	نرخ سرعت رشد ویژه (روزانه)	زمان دوبرابر شدن سلول (روز)	بازده تولید زیست توده (گرم بر لیتر بر روز)
۰	0.106 ± 0.006	6.52 ± 0.15	0.316 ± 0.008
۰/۰۵	0.131 ± 0.01	5.27 ± 0.008	0.448 ± 0.017
۰/۱	0.146 ± 0.008	4.72 ± 0.006	0.557 ± 0.006
۰/۱۵	0.162 ± 0.009	4.27 ± 0.01	0.69 ± 0.008
۰/۲	0.186 ± 0.008	3.71 ± 0.009	0.97 ± 0.04
۰/۵	0.086 ± 0.007	7.96 ± 0.14	0.241 ± 0.018
۱	0.053 ± 0.016	12.87 ± 0.07	0.151 ± 0.09

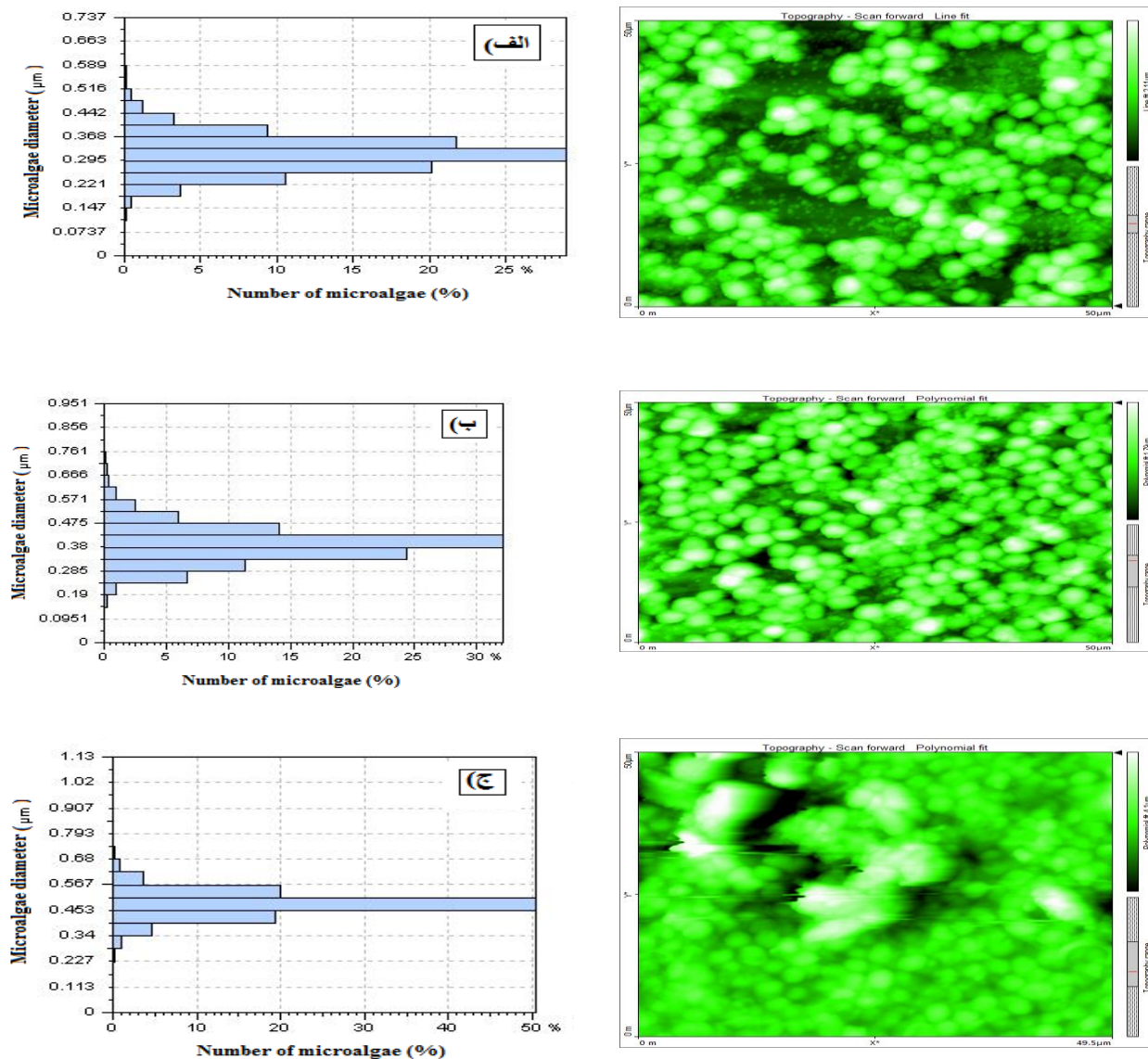
اتمی (AFM) است. میکروسکوپ نیروی اتمی قادر به تصویربرداری با تفکیک مکانی اتمی از نمونه‌های رسانا، نارسانا و حتی نمونه‌های بیولوژیکی است [۳۲]. به‌منظور بررسی تغییرات اندازه سلولی ریزجلبک تحت تأثیر نانو ماده آمینوکلئ منیزیم، تصاویر میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) گرفته شد (شکل ۶). اندازه سلولی ریزجلبک تحت تأثیر نانو ماده در حالت‌های کنترل، ۰/۲ و ۱ گرم در لیتر نانو ماده آمینوکلئ منیزیم به ترتیب در محدوده ۰/۳۶۸-۰/۲۵۸، ۰/۴۷۵-۰/۲۸۵ و ۰/۵۶۷-۰/۳۴۰ میکرومتر قرار گرفت. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، با افزودن نانوماده آمینوکلئ منیزیم در غلظت‌های ۰/۲ و ۱ گرم در لیتر نسبت به کنترل اندازه سلول به ترتیب ۲۹/۰۷ و ۵۴/۰۷ درصد افزایش یافته است. باوجود افزایش نانوماده بیش از ۰/۲ گرم در لیتر و کاهش تراکم سلولی، اندازه سلولی ریزجلبک افزایش یافته است. در غلظت بالای نانو ماده و به وجود آمدن شرایط استرس‌زا میزان اکسیژن فعال افزایش یافته، از تراکم سلولی کاسته می‌شود. اما با توجه به جذب سریع‌تر بی‌کربنات تحت شرایط استرس‌زای به وجود آمده، اندازه سلولی ریزجلبک افزایش یافته و میزان چربی بیشتری ذخیره می‌شود. روش‌های متداول افزایش چربی ریزجلبک تنها موجب افزایش ۲۲ درصدی چربی ریزجلبک می‌شوند. بنابراین، با توجه به کشت مجدد تحت تأثیر نانوماده آمینوکلئ منیزیم و بازیافت آن و به وجود آمدن محیط کشت یک‌پارچه، افزودن نانوماده آمینوکلئ منیزیم از لحاظ اقتصادی به‌صرفه‌تر خواهد بود [۳۶].

کربن غیرآلی راحت‌تر در دسترس ریزجلبک قرار می‌گیرد؛ در نتیجه رشد ریزجلبک بهبود می‌یابد [۲۲]. با افزایش مقدار نانوماده، مقدار اکسیژن فعال افزایش یافته، با به وجود آمدن شرایط استرس‌زا از رشد ریزجلبک کاسته می‌شود؛ اما بر مقادیر اسیدچرب و اندازه سلولی ریزجلبک افزوده می‌شود [۳۵].

همچنین سینتیک رشد ریزجلبک در جدول ۲ ارائه شده است. با افزایش مقدار نانوماده آمینوکلئ منیزیم از ۰ به ۰/۲ گرم در لیتر، مقدار نرخ سرعت رشد ویژه (μ) و بازده تولید زیست‌توده (P_B) به ترتیب از ۰/۱۰۶ و ۰/۳۱۶ گرم بر لیتر در روز به ۰/۱۸۶ و ۰/۹۷ گرم بر لیتر در روز در مدت زمان ۱۵ روز افزایش یافت. همچنین میزان زمان دو برابر شدن سلول (T_B)، از ۶/۵۲ روز به ۳/۷۱ روز کاهش یافت. با افزایش بیش از ۰/۲ گرم بر لیتر نانوماده، نرخ سرعت رشد و بازده تولید زیست‌توده به دلیل لخته‌های تشکیل شده کاهش یافته و زمان دو برابر شدن سلول افزایش می‌یابد.

۳-۳- تغییرات اندازه سلولی ریزجلبک *Chlorella sorokiniana* pa.91

برای مشاهده‌ی اجسام و نمونه‌هایی با ابعاد بسیار ریز در حد مولکول‌های کوچک و اتم‌ها، نمی‌توان از میکروسکوپ‌های معمولی استفاده کرد. بنابراین برای دیدن نمونه‌ها در اندازه بسیار کوچک باید از ابزارهای دقیق‌تر و پیشرفته‌تر استفاده شود. یکی از این ابزارها، میکروسکوپ نیروی



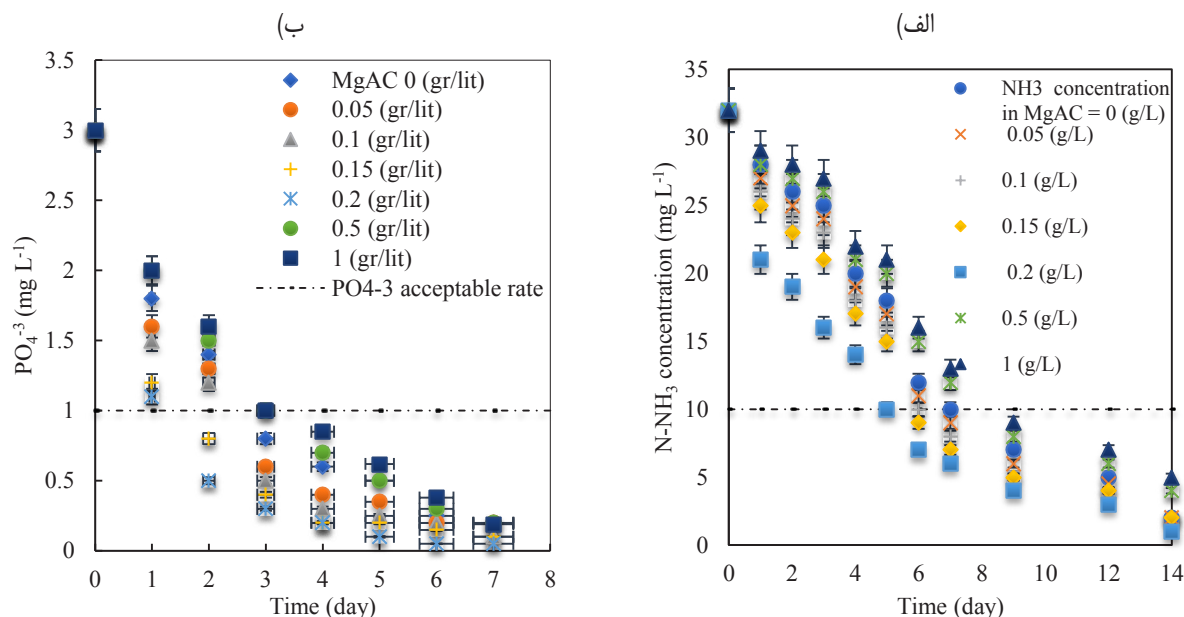
شکل ۶. تغییرات اندازه سلولی ریز جلبک در مقادیر مختلف نانو ماده آمینوکلای منیزیم (الف) کنترل، (ب) ۰/۲ گرم در لیتر، (ج) ۱ گرم در لیتر

Fig. 6. Changes in microalgae cell size at different doses of aminoclay-magnesium nanomaterial: a) Control, b) 0.2 g/L, c) 1 g/L

کشت (فاضلاب شهری) مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس قوانین اروپا در مورد تخلیه پساب، مقدار ۱۰ تا ۱۵ میلی گرم بر لیتر برای کل نیتروژن و ۱ تا ۲ میلی گرم بر لیتر برای کل فسفر بر اساس جمعیت قابل قبول است [۳۶]. با افزایش نانوماده آمینوکلای منیزیم از ۰ تا ۰/۲ گرم در لیتر و به دنبال آن افزایش رشد ریز جلبک، روند حذف آمونیاک و فسفات افزایش می یابد. با افزایش بیش از ۰/۲ گرم در لیتر نانو ماده آمینوکلای منیزیم و در نتیجه کاهش نرخ رشد ریز جلبک غلظت آمونیاک و فسفات با شیب ملایم تری کاهش می یابد (شکل ۷). با افزایش نانوماده از ۰ تا ۰/۲ گرم در لیتر مقدار آمونیاک

۳-۴- حذف مواد مغذی (آمونیاک و فسفات) در فرآیند تصفیه فاضلاب توسط ریز جلبک *Chlorella sorokiniana* pa.91

حذف مواد آلی از جمله نیتروژن و فسفر از پساب توسط ریز جلبک به عوامل مختلفی مانند شدت تابش نور، نسبت نیتروژن به فسفر، چرخه تاریکی به روشنایی و نوع گونه ریز جلبک مرتبط است [۳۷]. با توجه به این که وجود آمونیاک و فسفات در پساب خروجی از تصفیه خانه ها مخاطرات زیست محیطی فراوانی دارد؛ در این تحقیق حذف مواد مغذی از فاضلاب توسط ریز جلبک در شرایط بهینه و افزودن نانوماده آمینوکلای منیزیم به عنوان افزودنی به محیط



شکل ۷. حذف مواد مغذی توسط ریز جلبک *Chlorella sorokiniana* pa.91 در مقادیر مختلف نانو ماده آمینو کلی منیزیم (الف) آمونیاک، (ب) فسفات

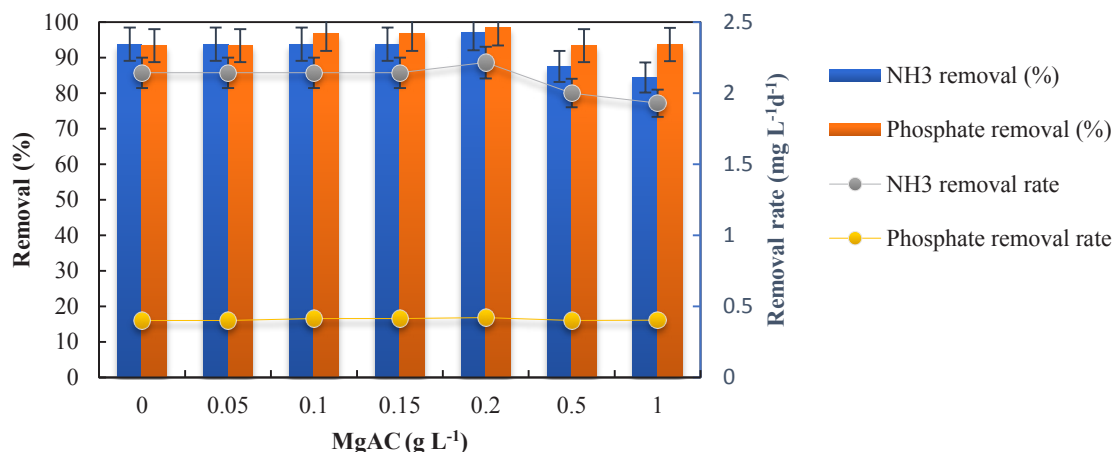
Fig. 7. Nutrient removal by the microalgae *Chlorella sorokiniana* pa.91 at different amounts of magnesium aminoclay nanomaterial: a) ammonia, b) phosphate

در مقدار ۰/۲ گرم بر لیتر هم‌زمان با افزایش نرخ رشد ریز جلبک، راندمان حذف مواد مغذی از فاضلاب افزایش می‌یابد. حذف مواد مغذی از پساب توسط ریز جلبک *Scenedesmus* sp و *Chlorella* sp به ترتیب ۹۸/۲٪، ۸۰/۵٪، ۷۰٪ درصد برای فسفات گزارش شد [۳۷]. در گزارش دیگری حذف TN و TP به ترتیب معادل ۹۱/۷٪ و ۸۱/۸۲٪ درصد توسط ریز جلبک‌های کلرلا، کلامیدوموناس و سندسموس مشاهده شد [۳۸]. همچنین در تحقیق دیگری ۸۸٪ و ۴۷/۵٪ درصد راندمان حذف توسط ریز جلبک *D. Salina* به ترتیب برای نیتрат و فسفات در شرایط pH معادل ۷/۵ تا ۸/۵، دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و شدت تابش ۱۲۰ میکرو مول بر مترمربع بر ثانیه گزارش شد [۳۹]. مطابق شکل ۸، تولید زیست‌توده ریز جلبک وابستگی شدیدی به آمونیاک محیط کشت دارد و مقدار فسفات محیط کشت تأثیر چندانی بر روی زیست‌توده تولیدی ندارد. در مجموع جذب مواد مغذی از محیط کشت توسط ریز جلبک در روزهای اول فاز رشد سریع‌تر است. افزایش تولید زیست‌توده در فاز رشد و تراکم سلولی بالا موجب کاهش عمق نور در محیط کشت شده و با کاهش توانایی سلول، جذب مواد مغذی با سرعت کمتری انجام می‌شود.

و فسفات به ترتیب از ۳۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر به کمتر از ۱۰ و ۱ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافته است. با افزودن ۱ گرم در لیتر نانوماده آمینو کلی منیزیم مقدار آمونیاک و فسفات به ترتیب به کمتر از ۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر در روز چهاردهم کشت خواهد رسید.

با توجه به راندمان حذف آمونیاک و فسفات توسط ریز جلبک *Chlorella sorokiniana* pa.91 از فاضلاب در مقادیر مختلف نانوماده آمینو کلی منیزیم (شکل ۸)، بالاترین راندمان حذف آمونیاک و فسفات به ترتیب ۹۶/۸۷٪ و ۹۸/۳۳٪ در مقدار ۰/۲ گرم در لیتر نانوماده آمینو کلی منیزیم مشاهده شد. کمترین راندمان حذف آمونیاک و فسفات مقدار ۸۴/۳۷٪ و ۹۳/۶۶٪ در مقدار ۱ گرم در لیتر نانوماده آمینو کلی منیزیم مشاهده شد. همچنین بالاترین نرخ حذف آمونیاک و فسفات به ترتیب ۲/۱۲ و ۰/۴۲ میلی‌گرم بر لیتر در روز و کمترین نرخ حذف آمونیاک و فسفات به ترتیب ۱/۹۲ و ۰/۴ میلی‌گرم بر لیتر در روز مشاهده شد.

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از حذف مواد مغذی توسط ریز جلبک، هم‌بستگی متناسبی با نمودار رشد ریز جلبک مشاهده شد. با مصرف مواد مغذی موجود در فاضلاب توسط ریز جلبک، رشد ریز جلبک افزایش یافته،



شکل ۸. حذف مواد مغذی توسط ریز جلبک *Chlorella sorokiniana* pa.91 در مقادیر مختلف نانو ماده الف) درصد حذف ب) نرخ حذف

Fig. 8. Nutrient removal by the microalgae *Chlorella sorokiniana* pa.91 at different amounts of nanomaterial A) Percentage of removal B) Removal rate

۷- فهرست علائم

کل مواد جامد معلق	: TSS
میزان اکسیژن بیولوژیکی مورد نیاز	: BOD
میزان اکسیژن شیمیایی مورد نیاز	: COD
کل نیتروژن	: TN
کل فسفر	: TP
آمینوپروپیل تری اتوکسی سیلان	: APTES
آمینوکل منیزیم	: MgAC
آنالیز طیفسنجی پراش اشعه ایکس	: XRD
میکروسکوپ الکترونی روبشی	: FE-SEM
وزن خشک زیست توده	: CDW
چگالی نوری	: OD
سرعت رشد ویژه	: μ
زمان دو برابر شدن	: T _D
بازده تولید زیست توده	: P _B
نرخ رشد مخصوص	: SGR
اکسیژن فعال	: ROS
میکروسکوپ نیروی اتمی	: AFM

۴- نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد ریز جلبک بومی *Chlorella sorokiniana* pa.91 پتانسیل بسیار خوبی را برای تولید غلظت زیست توده بالا و حذف مواد مغذی از فاضلاب تحت تأثیر نانوماده آمینوکل منیزیم دارد. در این تحقیق غلظت های مختلف نانوماده آمینوکل منیزیم بر نرخ رشد ریز جلبک، اندازه سلولی، حذف آمونیاک و فسفات از فاضلاب بررسی شد. با توجه به نتایج به دست آمده، غلظت مناسب نانوماده آمینوکل منیزیم مقدار ۰/۲ گرم در لیتر تعیین شد. میزان نرخ رشد سلولی، اندازه سلولی و حذف آمونیاک و فسفات به ترتیب معادل ۰/۱۸۶ روزانه، ۰/۲۸۵ - ۰/۴۷۵ میکرومتر و ۹۸/۳۳، ۹۶/۸۷ درصد راندمان حذف به دست آمد. این نتایج نشان می دهد، مقادیر کم نانوماده آمینوکل منیزیم با تأثیر مثبت بر روی ریز جلبک بومی *Chlorella sorokiniana* pa.91 برای تصفیه بیولوژیکی فاضلاب بسیار مناسب است.

۵- تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل که زمینه انجام این تحقیق را فراهم کردند سپاسگزاری می شود.

۶- اعلام تعارض منافع

نویسندگان اعلام می کنند که هیچ نوع تعارض منافی وجود ندارد.

- production, Bioprocess and biosystems engineering, 42 (2019) 425-433.
- [10] B. Gatamaneni Loganathan, V. Orsat, M. Lefsrud, Phycoremediation and valorization of synthetic dairy wastewater using microalgal consortia of *Chlorella variabilis* and *Scenedesmus obliquus*, Environmental Technology, 42(20) (2021) 3231-3244.
- [11] D. Zhou, C. Zhang, L. Fu, L. Xu, X. Cui, Q. Li, J.C. Crittenden, Responses of the microalga *Chlorophyta* sp. to bacterial quorum sensing molecules (N-acylhomoserine lactones): aromatic protein-induced self-aggregation, Environmental Science & Technology, 51(6) (2017) 3490-3498.
- [12] P. Asadi, H.A. Rad, F. Qaderi, Comparison of *Chlorella vulgaris* and *Chlorella sorokiniana* pa. 91 in post treatment of dairy wastewater treatment plant effluents, Environmental Science and Pollution Research, 26 (2019) 29473-29489.
- [13] R.G. Saratale, S.-K. Cho, R.N. Bharagava, A.K. Patel, S. Varjani, S.I. Mulla, D.S. Kim, S.K. Bhatia, L.F.R. Ferreira, H.S. Shin, A critical review on biomass-based sustainable biorefineries using nanobiocatalysts: Opportunities, challenges, and future perspectives, Bioresource Technology, 363 (2022) 127926.
- [14] S. Vasistha, A. Khanra, M. Clifford, M.P. Rai, Current advances in microalgae harvesting and lipid extraction processes for improved biodiesel production: A review, Renewable and Sustainable Energy Reviews, 137 (2021) 110498.
- [15] M.K. Nguyen, J.-Y. Moon, Y.-C. Lee, Loading effects of low doses of magnesium aminoclay on microalgal *Microcystis* sp. KW growth, macromolecule productions, and cell harvesting, Biomass and Bioenergy, 139 (2020) 105619.
- [16] J.-Q. Xiong, S. Ru, Q. Zhang, M. Jang, M.B. Kurade, S.-H. Kim, B.-H. Jeon, Insights into the effect of cerium oxide nanoparticle on microalgal degradation of sulfonamides, Bioresource technology, 309 (2020) 123452.
- [17] S. Vasistha, A. Khanra, M.P. Rai, Influence of microalgae-ZnO nanoparticle association on sewage
- [1] D. Kumar, T. Das, B.S. Giri, B. Verma, Preparation and characterization of novel hybrid bio-support material immobilized from *Pseudomonas cepacia* lipase and its application to enhance biodiesel production, Renewable Energy, 147 (2020) 11-24.
- [2] P. Yaqoubnejad, H.A. Rad, M. Taghavijeloudar, Development a novel hexagonal airlift flat plate photobioreactor for the improvement of microalgae growth that simultaneously enhance CO₂ bio-fixation and wastewater treatment, Journal of Environmental Management, 298 (2021) 113482.
- [3] S. Maryjoseph, B. Ketheesan, Microalgae based wastewater treatment for the removal of emerging contaminants: A review of challenges and opportunities, Case studies in chemical and environmental engineering, 2 (2020) 100046.
- [4] M.Y. Alazaiza, S. He, D. Su, S.S. Abu Amr, P.Y. Toh, M.J. Bashir, Sewage water treatment using *Chlorella vulgaris* microalgae for simultaneous nutrient separation and biomass production, Separations, 10(4) (2023) 229.
- [5] L.B. Sukla, E. Subudhi, D. Pradhan, The role of microalgae in wastewater treatment, Springer, 2019.
- [6] H. Al-Jabri, P. Das, S. Khan, M. Thaher, M. AbdulQuadir, Treatment of wastewaters by microalgae and the potential applications of the produced biomass—a review, Water, 13(1) (2020) 27.
- [7] S. Kazemifard, H. Nayebyzadeh, N. Saghatoleslami, E. Safakish, Application of magnetic alumina-ferric oxide nanocatalyst supported by KOH for in-situ transesterification of microalgae cultivated in wastewater medium, Biomass and Bioenergy, 129 (2019) 105338.
- [8] C. Urrutia, E. Yañez-Mansilla, D. Jeison, Bioremoval of heavy metals from metal mine tailings water using microalgae biomass, Algal Research, 43 (2019) 101659.
- [9] H. Eladel, A.E.-F. Abomohra, M. Battah, S. Mohammed, A. Radwan, H. Abdelrahim, Evaluation of *Chlorella sorokiniana* isolated from local municipal wastewater for dual application in nutrient removal and biodiesel

- [26] V.K.H. Bui, D. Park, Y.-C. Lee, Aminoclays for biological and environmental applications: An updated review, *Chemical Engineering Journal*, 336 (2018) 757-772.
- [27] L. Fu, K.K.R. Datta, K. Spyrou, G. Qi, A. Sardar, M.M. Khader, R. Zboril, E.P. Giannelis, Phyllosilicate nanoclay-based aqueous nanoparticle sorbent for CO₂ capture at ambient conditions, *Applied Materials Today*, 9 (2017) 451-455.
- [28] T.M. Fernandes, B.B. Gomes, U.M. Lanfer-Marquez, Apparent absorption of chlorophyll from spinach in an assay with dogs, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(3) (2007) 426-432.
- [29] H. Begum, F.M. Yusoff, S. Banerjee, H. Khatoon, M. Shariff, Availability and utilization of pigments from microalgae, *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(13) (2016) 2209-2222.
- [30] M.M.H. Alejandra Londono-Calderon, Pierre E. Palo, Lee Bendickson,, M.N.-H. Sandra Vergara, Andrew C. Hillier, and Tanya Prozorov, Londono-Calderon et al. - 2019 - Imaging of Unstained DNA Origami Triangles with Electron Microscopy, *Small Methods*, 1900393 (2019).
- [31] B. Kim, R. Praveenkumar, J. Lee, B. Nam, D.-M. Kim, K. Lee, Y.-C. Lee, Y.-K. Oh, Magnesium aminoclay enhances lipid production of mixotrophic *Chlorella* sp. KR-1 while reducing bacterial populations, *Bioresource Technology*, 219 (2016) 608-613.
- [32] C.M. Hoo, N. Starostin, P. West, M.L. Mecartney, A comparison of atomic force microscopy (AFM) and dynamic light scattering (DLS) methods to characterize nanoparticle size distributions, *Journal of Nanoparticle Research*, 10 (2008) 89-96.
- [33] T.O. Ajiboye, O.A. Oyewo, D.C. Onwudiwe, Simultaneous removal of organics and heavy metals from industrial wastewater: A review, *Chemosphere*, 262 (2021) 128379.
- [34] M.K. Nguyen, J.-Y. Moon, V.K.H. Bui, Y.-K. Oh, Y.-C. Lee, Recent advanced applications of nanomaterials in microalgae biorefinery, *Algal Research*, 41 (2019) 101522.
- wastewater towards efficient nutrient removal and improved biodiesel application: An integrated approach, *Journal of Water Process Engineering*, 39 (2021) 101711.
- [18] P. Asadi, H.A. Rad, F. Qaderi, Lipid and biodiesel production by cultivation isolated strain *Chlorella sorokiniana* pa. 91 and *Chlorella vulgaris* in dairy wastewater treatment plant effluents, *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 18 (2020) 573-585.
- [19] J. Baird, L. Schultz, R. Plummer, D. Armitage, Ö. Bodin, Emergence of collaborative environmental governance: what are the causal mechanisms?, *Environmental management*, 63 (2019) 16-31.
- [20] S. Nayak, I. Khozin-Goldberg, G. Cohen, D. Zilberg, Dietary supplementation with ω 6 LC-PUFA-rich algae modulates zebrafish immune function and improves resistance to streptococcal infection, *Frontiers in immunology*, 9 (2018) 1960.
- [21] M. Nayak, N. Rashid, W.I. Suh, B. Lee, Y.K. Chang, Performance evaluation of different cationic flocculants through pH modulation for efficient harvesting of *Chlorella* sp. HS2 and their impact on water reusability, *Renewable Energy*, 136 (2019) 819-827.
- [22] W. Farooq, H.U. Lee, Y.S. Huh, Y.-C. Lee, *Chlorella vulgaris* cultivation with an additive of magnesium-aminoclay, *Algal Research*, 17 (2016) 211-216.
- [23] S. Kim, J.-e. Park, Y.-B. Cho, S.-J. Hwang, Growth rate, organic carbon and nutrient removal rates of *Chlorella sorokiniana* in autotrophic, heterotrophic and mixotrophic conditions, *Bioresource technology*, 144 (2013) 8-13.
- [24] X. Li, F. Cai, T. Luan, L. Lin, B. Chen, Pyrene metabolites by bacterium enhancing cell division of green alga *Selenastrum capricornutum*, *Science of the Total Environment*, 689 (2019) 287-294.
- [25] L.N. Nguyen, L. Labeeuw, A.S. Commault, B. Emmerton, P.J. Ralph, M.A.H. Johir, W. Guo, H.H. Ngo, L.D. Nghiem, Validation of a cationic polyacrylamide flocculant for the harvesting fresh and seawater microalgal biomass, *Environmental Technology & Innovation*, 16 (2019) 100466.

- high rate algae ponds, INAE Letters, 3 (2018) 21-32.
- [38] Y. Liu, I. Yildiz, The effect of salinity concentration on algal biomass production and nutrient removal from municipal wastewater by *Dunaliella salina*, International Journal of Energy Research, 42(9) (2018) 2997-3006.
- [39] H. Doshi, A. Ray, I. Kothari, Biosorption of cadmium by live and dead *Spirulina*: IR spectroscopic, kinetics, and SEM studies, Current Microbiology, 54 (2007) 213-218.
- [35] P. Spolaore, C. Joannis-Cassan, E. Duran, A. Isambert, Commercial applications of microalgae, Journal of bioscience and bioengineering, 101(2) (2006) 87-96.
- [36] A.A. Ansari, A.H. Khoja, A. Nawar, M. Qayyum, E. Ali, Wastewater treatment by local microalgae strains for CO₂ sequestration and biofuel production, Applied Water Science, 7 (2017) 4151-4158.
- [37] K. Alemu, B. Assefa, D. Kifle, H. Kloos, Nitrogen and phosphorous removal from municipal wastewater using

چگونه به این مقاله ارجاع دهیم

M. Panbehkar Bisheh, H. Amini Rad, The treatment of municipal wastewater by *Chlorella sorokiniana* pa.19 using magnesium-aminoclay nanomaterial, Amirkabir J. Civil Eng., 57(3) (2025) 427-444.

DOI: [10.22060/ceej.2025.22264.7943](https://doi.org/10.22060/ceej.2025.22264.7943)



