

# The Effect of Nutrient Elements in the Culture Medium on the Biological Desalination of Deep Aquifer Well Water in Sistan by Live Algae *Chlorella vulgaris*

Narjes Sanchooli\* and Hashem Khandan Barani<sup>1</sup>

(Received: May 24-2025 ; Revised: July 26-2025 ; Accepted: October 1-2025)

1. Department of Aquatic Sciences, Hamoun International Wetland Institute, Research Institute of Zabol, Zabol, Iran.

\*: Corresponding author, Email: [sanchoolin@yahoo.com](mailto:sanchoolin@yahoo.com)

## Abstract

The biological desalination system has lower energy consumption and environmental impacts, as well as simpler engineering technology and complexity compared to conventional desalination methods. This study aimed to investigate the effect of nutrients in the *Chlorella vulgaris* algae culture medium on the rate of algae growth, salinity reduction, TDS, and EC. For this purpose, an amount of algae was inoculated into culture media-containing treatments to achieve a density of  $5 \times 10^6$  cells/ml. The results showed that the highest amount of dry biomass of algae was in the deep aquifer well water + BG-11 culture medium treatment, with a value of  $0.76 \pm 0.02$  g. The highest amount of chlorophyll a and b was observed on days 4, 17, and 30 in the control treatment, which was significantly different from the other treatments ( $p < 0.05$ ). The lowest value of light absorption of algae was observed in the control treatment on all days. At the end of the 30-day experimental period, the highest reduction in salinity, TDS, and EC was observed with 27.60, 26.83, and 41.60 percent reduction in the deep aquifer well water + culture medium treatment, respectively, which showed a significant difference ( $p < 0.05$ ) with the deep aquifer well water treatment. The results showed that deep aquifer well water, due to its nutrient content, has a high potential for algae growth and, as a result, biological desalination and the absence of the use of commercial culture medium, which can reduce desalination costs.

**Keywords:** Deep aquifer well, Microalgae, Salinity reduction, BG-11

**How to cite this article:** Sanchooli, N. and Khandan Barani, H. 2025. The Effect of Nutrient Elements in the Culture Medium on the Biological Desalination of Deep Aquifer Well Water in Sistan by Live Algae *Chlorella vulgaris*. *J. Water and Soil Sci.* 29(4): 110-122. DOI: [10.47176/jwss.29.4.71271](https://doi.org/10.47176/jwss.29.4.71271)

Copyright © 2025 Sanchooli and Khandan Barani. Published by Isfahan University of Technology.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

## اثر عناصر غذایی محیط کشت در نمک‌زدایی زیستی آب چاه ژرف سیستان توسط جلبک زنده *Chlorella vulgaris*

نرجس سنجولی\*<sup>ID</sup> و هاشم خندان بارانی<sup>۱</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۳/۳؛ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۵/۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۷/۹)

۱. گروه علوم آبزیان، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، پژوهشگاه زابل، زابل، ایران.

\*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: [sanchoolin@yahoo.com](mailto:sanchoolin@yahoo.com)

### چکیده

سیستم نمک‌زدایی زیستی مصرف انرژی و اثرهای زیست‌محیطی کمتری و تکنولوژی و پیچیدگی مهندسی ساده‌تری در مقایسه با روش‌های نمک‌زدایی مرسوم دارد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر عناصر غذایی در محیط کشت جلبک *Chlorella vulgaris* بود تا میزان رشد جلبک، کاهش شوری، TDS و EC بررسی شوند. برای این منظور به تیمارهای حاوی محیط کشت‌های مختلف، میزانی از جلبک تلقیح شد تا تراکم  $5 \times 10^6$  سلول در میلی‌لیتر به دست آید. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار بیومس خشک جلبک در تیمار آب ژرف + محیط کشت BG-11 با مقدار  $0.76 \pm 0.02$  گرم بود. بیشترین میزان کلروفیل a و b در روزهای ۴، ۱۷ و ۳۰ در تیمار شاهد دیده شد که با دو تیمار دیگر تفاوت معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) داشت. کمترین مقدار جذب نوری جلبک در تمام روزها به تیمار شاهد اختصاص گرفت. در پایان دوره آزمایشی ۳۰ روزه، بیشترین میزان کاهش شوری، TDS و EC به ترتیب با ۲۷/۶۰، ۲۶/۸۳ و ۴۱/۶۰ درصد کاهش در تیمار آب ژرف + محیط کشت دیده شد که تفاوت معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) را با تیمار آب ژرف نشان داد. نتایج نشان داد که آب ژرف به دلیل مواد مغذی موجود در آن، قابلیت زیادی برای رشد جلبک و در نتیجه نمک‌زدایی زیستی و عدم استفاده از محیط کشت تجاری داشته و می‌تواند هزینه‌های نمک‌زدایی را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: چاه ژرف، ریزجلبک، کاهش شوری، BG-11

حق انتشار این مستند، متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است. © ۱۴۰۴

این مقاله تحت گواهی زیر منتشر شده و هر نوع استفاده غیرتجاری از آن مشروط به استناد صحیح به مقاله و با رعایت شرایط مندرج در آدرس زیر مجاز است: (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)



## مقدمه

یکی از چالش‌های بزرگ جهانی امروز، کمبود آب به ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک است. نمک‌زدایی یک فناوری نویدبخش برای به‌دست‌آوردن آب شیرین از منابع شور مانند آب دریا و شور است. نمک‌زدایی زیستی یکی از روش‌های جدید نمک‌زدایی است که از فرایندهای زیستی برای حذف نمک و سایر ناخالصی‌های منابع آب مانند آب دریا یا شور استفاده می‌کند. نمک‌زدایی زیستی آب مزایای متعددی نسبت به روش‌های معمولی نمک‌زدایی مانند مصرف کمتر انرژی، سازگاری با محیط‌زیست و پتانسیل برای ارزش افزوده محصولات دارد (۱). یک رویکرد امیدوارکننده برای نمک‌زدایی زیستی، میکروارگانیسم‌های فتوسنتزی هست که می‌توانند در انواع مختلف محیط‌های آبی رشد و تولید اکسیژن و زیست‌توده کنند (۱۴). در میان این میکروارگانیسم‌ها، ریزجلبک‌ها دارای چندین مزیت از جمله کارایی فتوسنتزی زیاد، نرخ رشد زیاد، توانایی سازگاری با شوری‌های مختلف و پتانسیل برای تولید زیست‌توده هستند (۱۱). مصرف انرژی نمک‌زدایی مبتنی بر جلبک در مقایسه با فرایندهای نمک‌زدایی حرارتی یا نمک‌زدایی مبتنی بر غشاء کمتر است (۹). اگرچه برای به چرخش درآوردن جلبک در آب، جدا کردن و جمع‌آوری جلبک‌ها از پساب و استفاده مجدد از زیست‌توده جلبک پس از تصفیه، انرژی مورد نیاز است اما مصرف انرژی آن به طور قابل توجهی کمتر از سایر فرایندهای نمک‌زدایی مرسوم است. برای نمونه، آراشیرو و همکاران (۳) مصرف انرژی برای حوضچه‌های جلبکی با نرخ زیاد با سناریوهای متفاوت را تجزیه و تحلیل کرده‌اند. آنها به این نتیجه رسیدند که کل مصرف انرژی برای حوضچه‌های جلبکی با نرخ زیاد در محدوده ۰/۰۸-۰/۰۶ کیلووات‌ساعت بر مترمکعب بود؛ اما کارخانه اسمز معکوس آب دریا را با مصرف برق در محدوده ۱/۲ تا ۱۰ کیلووات‌ساعت در هر مترمکعب به آب آشامیدنی تبدیل می‌کند (۲۷). فرایند نمک‌زدایی مبتنی بر جلبک به عنوان یک فناوری با سازگاری بیشتر با محیط‌زیست در مقایسه با سیستم

نمک‌زدایی اسمز معکوس بوده که مشکلات زیست‌محیطی در محیط دریافت‌کننده در نتیجه تولید مقدار زیادی آب نمک، دمای زیاد و سایر مواد شیمیایی بارگیری‌شده ایجاد می‌کند و به علاوه مشکل دیگر آن انتشار زیاد گازهای گلخانه‌ای است (۶). توانایی حذف نمک به شدت در گونه‌های مختلف جلبک، متفاوت است (۱۹) و ظرفیت حذف آنها نیز توسط عوامل مختلف از جمله محیط خارجی (برای نمونه، pH و دما)، شرایط عملیاتی (برای نمونه، زمان تماس، نسبت جلبک و نمک) و ویژگی‌های سلول جلبک تنظیم می‌شود. جلبک‌ها از طریق دو فرایند جذب سطحی (فرایندی سریع و غیروابسته به متابولیسم) و تجمع زیستی (فرایندی کند و وابسته به متابولیسم) می‌توانند در کاهش نمک آب نقش داشته باشند (۹). توانایی ریزجلبک‌ها برای استفاده از مواد مغذی موجود در فاضلاب و آب شور برای رشد نه تنها با جایگزین‌شدن با محیط رشد تجاری، هزینه تولید را کاهش می‌دهد؛ بلکه فاضلاب و آب شور را برای استفاده در آبیاری و سایر کاربردهای تجاری مهیا می‌کند. این امر می‌تواند با توسعه یک فناوری مناسب از طریق بهینه‌سازی شرایط رشد، با در نظر گرفتن مواد مغذی در دسترس، تغییرات دما، شوری، تمایز شدت نور عملی شود (۱۶ و ۳۰). هدف از انجام این پژوهش، مقایسه اثر عناصر غذایی (ریز و درشت مغذی‌های موردنیاز جلبک برای رشد) موجود در محیط کشت برای نمک‌زدایی زیستی با جلبک *Chlorella vulgaris* بود تا میزان رشد جلبک و کاهش شوری در نتیجه مصرف نمک‌های موجود در آب چاه ژرف شهرستان نیمروز منطقه سیستمان توسط جلبک بررسی شوند.

## مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و سنجش فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب خروجی چاه ژرف شماره ۳

آب از چاه ژرف واقع در شهرستان نیمروز منطقه سیستمان در استان سیستان و بلوچستان (با طول جغرافیایی ۶۱ درجه و ۲۵ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۷ دقیقه شمالی، با

### آزمایش نمک‌زدایی

تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- جلبک *C. vulgaris* با تراکم  $5 \times 10^6$  cell/mL تلقیح‌شده در محیط BG-11 تهیه‌شده با آب چاه ژرف، ۲- جلبک *C. vulgaris* با تراکم  $5 \times 10^6$  cell/mL تلقیح‌شده در آب چاه ژرف بدون محیط کشت BG-11 و ۳- تیمار شاهد تلقیح جلبک با تراکم یادشده در محیط کشت BG-11 تهیه‌شده با آب مقطر بود. بعد از کشت اولیه جلبک‌ها در محیط کشت BG-11 تهیه‌شده با آب مقطر و محاسبه تراکم جلبکی با لام نئوبار، مقداری از جلبک به ظروف حاوی محیط کشت BG-11 تهیه‌شده با آب چاه ژرف و آب مقطر (شاهد) و آب چاه ژرف بدون محیط کشت تلقیح شد تا غلظت اولیه جلبکی به میزان  $5 \times 10^6$  سلول در میلی‌لیتر به دست آید. برای رشد مطلوب جلبک‌ها موارد یادشده در مبحث کشت جلبک تأمین شد. همچنین از پمپ هوا، به منظور به چرخش درآوردن آب و ایجاد جریان و همچنین جابجایی جلبک‌ها استفاده شد. ارلن‌ها دو بار در روز تکان داده شدند تا از تجمع سلول‌های جلبکی جلوگیری شود. این آزمایش در سه تکرار برای هر تیمار و به مدت ۳۰ روز انجام شد.

### اندازه‌گیری میزان رشد ریزجلبک

در روزهای ۴، ۱۰، ۱۷ و ۳۰ بعد از آزمایش نمک‌زدایی، نمونه‌برداری برای اندازه‌گیری میزان رشد ریزجلبک‌ها انجام و میزان جذب نوری در طول موج ۶۸۰ نانومتر با کمک دستگاه اسپکتوفتومتر (Unico, 2100، آمریکا) انجام شد (۲۴).

### اندازه‌گیری زیست‌توده (بیومس) خشک جلبکی

در پایان دوره آزمایش، بعد از ته‌نشینی جلبک‌ها و تخلیه آب رویی، محیط کشت حاوی جلبک نمونه‌برداری و با سرعت ۴۰۰۰ دور به مدت ۸ دقیقه سانتریفیوژ شد و مایع رویی برای سنجش پارامترهای فیزیوشیمیایی برداشته و باقی‌مانده در پتری‌دیش در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ روز در آون نگهداری و خشک شد و سپس با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ وزن شد. تفاوت وزن اولیه (پتری‌دیش خالی) و ثانویه

عمق ۱۷۹۰ متر) به طور مستقیم از لوله خروجی چاه توسط ظروف ۲۰ لیتری سفید مات تمیز برداشت شد و به آزمایشگاه پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون پژوهشگاه زابل منتقل شد. سپس اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب جمع‌آوری‌شده مانند شوری، مجموع مواد جامد محلول (TDS) و هدایت الکتریکی (EC) بعد از انتقال به آزمایشگاه انجام شد.

### انتخاب جلبک

در این پژوهش گونه جلبکی *C. vulgaris* با توجه به مطالعات قبلی انجام‌شده (۸، ۱۰، ۱۷، ۲۰ و ۲۷) بر اساس نرخ رشد، تحمل دامنه شوری و اثرگذاری بر کاهش شوری آب انتخاب شد.

### تهیه استوک جلبک و کشت اولیه آن

استوک اولیه جلبک *C. vulgaris* از بانک ملی جلبک تهیه شد. کیفیت ظاهری جلبک‌ها، تراکم و عدم آلودگی در زیر میکروسکوپ به دقت بررسی شد و سپس برای ارزیابی بیشتر کیفیت و نیز دستیابی به مقدار بیشتر استوک، تحت شرایط استاندارد جلبک‌ها در ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری به نسبت ۱ به ۱۰ به محیط کشت BG-11 (جدول ۱) تهیه‌شده با آب مقطر تلقیح شدند و در شرایط نوری با لامپ ال‌ای‌دی با شدت نور ۳۵۰۰ لوکس در دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی (۲۰) در دمای ۲۵ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. نمونه‌های جلبکی رشدیافته در مرحله بعدی برای تلقیح در آزمایش نمک‌زدایی استفاده شدند.

### آماده‌سازی محیط کشت

محیط کشت BG-11 با آب استحصالی از چاه ژرف تهیه و همچنین آب چاه ژرف بدون اضافه کردن مواد مغذی نیز در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در فشار ۱۵ اتمسفر استریل شدند. ظروف کشت پیش‌ازاین با اتوکلاو استریلیزه شده بودند.

جدول ۱. مواد تشکیل دهنده محیط کشت BG-11 مورد استفاده برای کشت جلبک *C. vulgaris*

| عناصر میکرو (گرم) |                                                      | عناصر ماکرو (گرم) |                                                    |
|-------------------|------------------------------------------------------|-------------------|----------------------------------------------------|
| ۲/۸۶              | H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>                       | ۷۵                | NaNO <sub>3</sub>                                  |
| ۱/۸۱              | MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O                 | ۲                 | K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .3H <sub>2</sub> O |
| ۰/۲۲              | ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O                 | ۱                 | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>                    |
| ۰/۳۹              | Na <sub>2</sub> MOO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O  | ۳/۷۵              | MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O               |
| ۰/۰۸              | CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O                 | ۱/۸۰              | CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O               |
| ۰/۰۵              | CO(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O | ۰/۰۵              | EDTA-Na <sub>2</sub>                               |
|                   |                                                      | ۰/۳۰              | Fe(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Citrate          |
|                   |                                                      | ۰/۳۰              | Citric acid                                        |

(پتری دیش حاوی جلبک خشک شده) بیانگر میزان زیست توده خشک جلبک بود (۲۴).

#### استخراج و سنجش میزان کلروفیل a و b

در روزهای ۴، ۱۰، ۱۷ و ۳۰ بعد از کشت جلبک، از تیمارهای مختلف، نمونه برداری به میزان ۵ میلی لیتر انجام و به مدت ۶ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. سپس مایع رویی تخلیه و به باقی مانده موجود در لوله آزمایش ۵ میلی لیتر استون ۸۰ درصد اضافه شد و به مدت ۲ دقیقه ورتکس شد تا بیومس جلبکی در معرض استون قرار گرفته و استخراج صورت گیرد. سپس با فویل آلومینیومی پوشیده شده و به مدت ۲۴ ساعت در داخل یخچال نگهداری شد. بعد از این مدت، دوباره به روش یادشده سانتریفیوژ صورت گرفت و مقدار جذب نمونه ها توسط اسپکتوفتومتر در طول موج های ۶۴۷ و ۶۶۳ نانومتر (۲) قرائت و غلظت رنگدانه ها با معادلات ۱ و ۲ به دست آمد.

$$\text{Chlorophylla } (\mu\text{g / ml}) = 12.25A_{663} - 2.55A_{647} \quad (1)$$

$$\text{Chlorophyllb } (\mu\text{g / ml}) = 20.31A_{647} - 4.91A_{663} \quad (2)$$

#### سنجش پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب

ارزیابی فاکتورهای فیزیکوشیمیایی نمونه های آب جمع آوری شده مانند شوری آب با کمک شوری سنج پرتابل، هدایت الکتریکی

برحسب میکروزیمنس بر سانتی متر از طریق مدل رسانایی متر پرتابل و مجموع مواد جامد محلول با TDS متر پرتابل سنجیده شدند. فاکتورهای فیزیکوشیمیایی یادشده بعد از تهیه محیط کشت BG-11 با آب چاه ژرف و آب چاه ژرف بدون محیط کشت در روز اول و ۳۰ روز بعد از کشت جلبک مجدداً اندازه گیری شدند تا درصد تغییرات هر یک از فاکتورهای فیزیکوشیمیایی در مقایسه با روز اول محاسبه شود. همچنین میزان نیتрат، فسفات و آهن نمونه ها توسط دستگاه پالین تست (Palintest، انگلستان) سنجیده شد.

#### تجزیه و تحلیل آماری

ابتدا نرمال بودن داده ها به وسیله آزمون Kolmogorov-Smirnov بررسی شد. پس از اطمینان از نرمال بودن داده ها، تجزیه و تحلیل با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) انجام شد. به منظور مقایسه میانگین ها از آزمون توکی استفاده شد و  $p < 0.05$  به عنوان مرز استنتاج آماری در نظر گرفته شد. برای انجام کلیه آنالیزهای آماری یادشده از نرم افزار SPSS و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

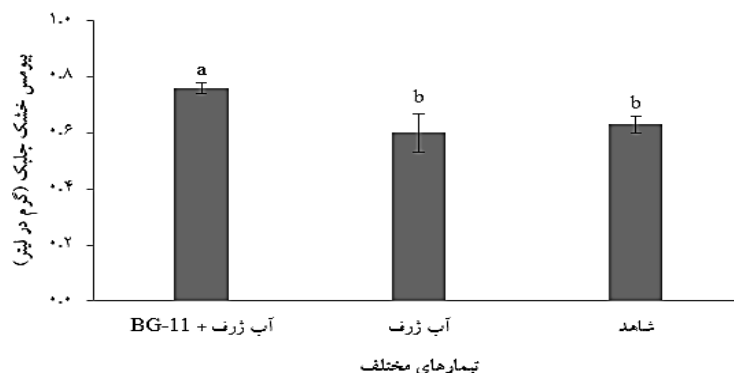
## نتایج و بحث

تولید بیومس جلبک *C. vulgaris* کشت‌داده‌شده در آب چاه ژرف

نتایج حاصل از بیومس خشک جلبک *C. vulgaris* بعد از اتمام دوره آزمایشی ۳۰ روزه، حاکی از اختصاص‌گرفتن بیشترین مقدار به تیمار آب ژرف + محیط کشت BG-11 با  $0.76 \pm 0.02$  گرم در لیتر و سپس تیمارهای شاهد و آب ژرف به ترتیب با مقادیر  $0.63 \pm 0.03$  و  $0.60 \pm 0.07$  گرم در لیتر بود که تیمار جلبک *C. vulgaris* رشدیافته در آب ژرف + BG-11 تفاوت معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) با دو تیمار دیگر نشان داد؛ اما هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمار شاهد و آب ژرف دیده نشد (شکل ۱). بیشترین مقدار بیومس جلبکی در *C. vulgaris* از نظر شوری در تیمار آب ژرف با محیط کشت در مقایسه با آب شیرین (آب مقطر) دیده شد که مطابق با نتایج مطالعه لوآنگ پپیات و چیستی (۱۸) بود که کشت جلبک *C. vulgaris* در محیط کشت BG-11 در سه آب شیرین، آب شور و آب دریا مورد بررسی و مقایسه قرار گرفته بود. آنها بیشترین میزان بیومس خشک تولیدشده در پایان آزمایش را در آب شور ( $3/5$  گرم در لیتر) در مقایسه با آب شیرین ( $2/5$  گرم در لیتر) و آب دریا ( $2/9$  گرم در لیتر) به دست آوردند. زیست توده *C. vulgaris* تحت تأثیر مواد مغذی مختلف قرار می‌گیرد. شرایط استرس مانند محدودیت نیتروژن، فسفر و آهن می‌تواند بر سرعت رشد و میزان زیست‌توده تأثیر بگذارد (۲۶). در شرایط بهینه کشت، ریزجلبک‌ها تولید زیست‌توده زیادی را نشان می‌دهند (۲۳ و ۲۹). با این حال، کمبود نیتروژن که مسئول افزایش محتوای پروتئین‌ها در سلول‌ها است، باعث کاهش بهره‌وری زیست‌توده می‌شود (۲۵). در مطالعه حاضر میزان نترات، فسفات و آهن در محیط کشت‌های مختلف مورد مطالعه اندازه‌گیری و در جدول ۲ آورده شده است که میزان آنها در آب ژرف + محیط کشت به ترتیب  $16/5$ ،  $37/5$  میلی‌گرم در لیتر بوده است. پس رشد بهتر جلبک *C. vulgaris* در آب ژرف + محیط کشت به دلیل وجود مواد مغذی موجود در آب ژرف و بیشتر شدن این

مواد مغذی با اضافه شدن محیط کشت در مقایسه با دو تیمار دیگر بوده است.

میزان جذب نوری و تراکم جلبک بعد از کشت در آب ژرف مقایسه میزان جذب نوری جلبک *C. vulgaris* در روزهای ۴، ۱۰، ۱۷ و ۳۰ بعد از آزمایش نمک‌زدایی آب چاه ژرف در جدول ۳ آورده شده است. در روز چهارم بیشترین جذب نوری به تیمار آب ژرف بدون محیط کشت با میزان  $0.48 \pm 0.02$  و سپس تیمار آب ژرف + محیط کشت با میزان  $0.44 \pm 0.01$  اختصاص گرفت که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشتند. روز دهم هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها دیده نشد. در روز ۱۷، تیمار شاهد کمترین میزان جذب نوری را با مقدار  $1/06 \pm 0.03$  نشان داد که با دو تیمار دیگر تفاوت معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) داشت؛ ولی تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار آب ژرف + محیط کشت با تیمار آب ژرف بدون محیط کشت دیده نشد. روز ۳۰ ام بیشترین میزان جذب نوری در تیمار آب ژرف + محیط کشت به میزان  $2/24 \pm 0.05$  نشان داده شد که با دو تیمار دیگر تفاوت معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ ). تراکم جلبک *C. vulgaris* رشدیافته در آب چاه ژرف با محیط کشت و آب ژرف بدون محیط کشت بعد از پایان دوره ۳۰ روزه آزمایش در شکل ۲ آورده شده است. همان‌طور که از شکل ۲ پیداست، جلبک مورد مطالعه تراکم بیشتری را در آب ژرف با محیط کشت در مقایسه با آب ژرف بدون محیط کشت نشان داد. مطالعات نشان داده است که کاهش در بیومس جلبکی در نتیجه کاهش در محتوی مواد مغذی در محیط کشت به وجود آمده است (۱۲ و ۳۱)؛ پس جذب نوری کمتر دیده‌شده در دو تیمار شاهد و آب ژرف به دلیل وجود مواد مغذی کمتر در مقایسه با تیمار آب ژرف + محیط کشت است (جدول ۲). در مطالعه حاضر یک رابطه مستقیم بین میزان بیومس جلبکی و جذب نوری با مواد مغذی موجود در محیط کشت جلبک دیده شده که مطابق با نتایج راتومسکی و هاروت پاو (۲۶) در بررسی اثر استفاده از فاضلاب مزارع پرورش ماهی سالمون به عنوان محیط کشت



شکل ۱. مقایسه بیومس خشک جلبک *C. vulgaris* در تیمارهای مختلف پس از اتمام دوره ۳۰ روزه آزمایش نمک‌زدایی

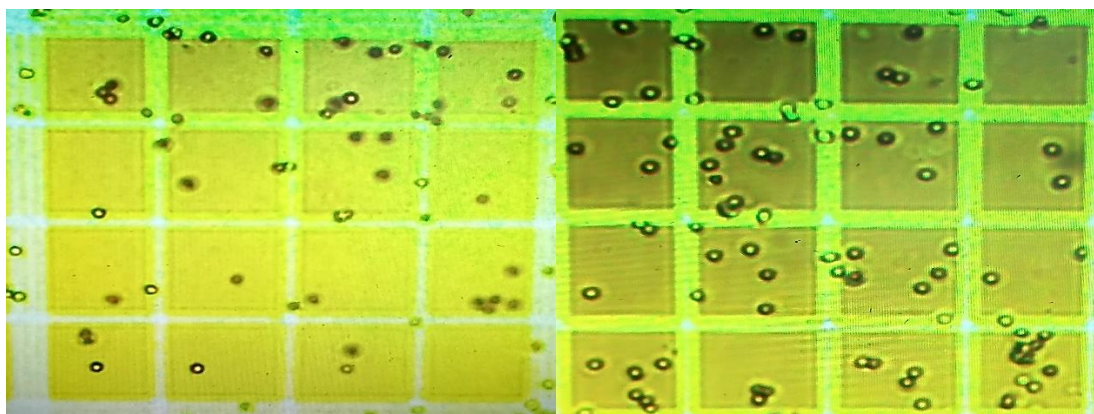
جدول ۲. مواد مغذی موجود در محیط کشت‌های مختلف مورد استفاده برای رشد جلبک در فرایند نمک‌زدایی

| مواد مغذی                 | آب ژرف | محیط کشت BG-11 با آب مقطر (شاهد) | آب ژرف با محیط کشت BG-11 |
|---------------------------|--------|----------------------------------|--------------------------|
| فسفات (میلی گرم در لیتر)  | ۲/۰۸   | ۱۲                               | ۱۶/۵                     |
| نیتрат (میلی گرم در لیتر) | ۱۴۹    | ۱۴۵                              | ۱۰۶۰                     |
| آهن (میلی گرم در لیتر)    | ۰      | ۰/۰۶                             | ۰/۳۷                     |

جدول ۳. مقایسه میزان جذب نوری جلبک *C. vulgaris* در روزهای مختلف آزمایش نمک‌زدایی از آب چاه ژرف

| روزهای آزمایش | شاهد              | آب ژرف بدون محیط کشت | آب ژرف با محیط کشت BG-11 |
|---------------|-------------------|----------------------|--------------------------|
| ۴             | $0.36 \pm 0.02^b$ | $0.48 \pm 0.02^a$    | $0.44 \pm 0.01^a$        |
| ۱۰            | $0.94 \pm 0.00^a$ | $0.81 \pm 0.13^a$    | $0.98 \pm 0.07^a$        |
| ۱۷            | $1.06 \pm 0.03^b$ | $1.24 \pm 0.18^a$    | $1.46 \pm 0.02^a$        |
| ۳۰            | $1.17 \pm 0.12^c$ | $1.56 \pm 0.09^b$    | $2.24 \pm 0.05^a$        |

میانگین  $\pm$  انحراف معیار (حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح  $(p < 0.05)$ ) است.



شکل ۲. تراکم جلبک *Chlorella vulgaris* رشد یافته در آب ژرف با محیط کشت (سمت راست) و آب ژرف بدون محیط کشت (سمت چپ)

برای رشد جلبک *C. vulgaris* است که بیشترین بیومس جلبکی و جذب نوری را در تیمار ۸۰ درصد فاضلاب که بیشترین مواد مغذی را داشت، به دست آوردند.

#### میزان کلروفیل a و b

در جدول ۴ مقایسه میزان تغییرات کلروفیل a پس از رشد جلبک *C. vulgaris* در روزهای ۴، ۱۰، ۱۷ و ۳۰ بعد از آزمایش نمک‌زدایی آب چاه ژرف آورده شده است. همان‌طور که از جدول ۴ پیداست، بین تیمارها در روز چهارم تفاوت معنی‌دار وجود داشت و بیشترین میزان کلروفیل a به تیمار شاهد با میزان  $0.05 \pm 1/08$  میکروگرم در میلی‌لیتر اختصاص گرفت. روز دهم تفاوت معنی‌داری بین تیمارها دیده نشد. روز ۱۷ بیشترین میزان کلروفیل a در تیمار شاهد با میزان  $0.21 \pm 2/36$  میکروگرم در میلی‌لیتر دیده شد و تفاوت معنی‌داری با تیمار آب ژرف + محیط کشت نشان نداد؛ ولی با تیمار آب ژرف بدون محیط کشت تفاوت معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بود. روز ۳۰ ام، کلروفیل a بیشترین مقدار را در تیمار شاهد به میزان  $0.20 \pm 4/95$  میکروگرم در میلی‌لیتر نشان داد که با دو تیمار دیگر تفاوت معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) داشت؛ ولی دو تیمار دیگر تفاوت معنی‌داری با هم نشان ندادند. مقایسه میزان تغییرات کلروفیل b پس از رشد جلبک *C. vulgaris* در روزهای ۴، ۱۰، ۱۷ و ۳۰ بعد از آزمایش نمک‌زدایی آب چاه ژرف در جدول ۵ آورده شده است. در روز چهارم بیشترین میزان کلروفیل b به میزان  $0.00 \pm 0/50$  میکروگرم در میلی‌لیتر در تیمار شاهد دیده شد و تفاوت معنی‌داری بین تیمارها دیده شد ( $p < 0.05$ ). روز دهم هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها دیده نشد. روز ۱۷ بیشترین میزان کلروفیل b در تیمار شاهد با میزان  $0.31 \pm 0/91$  میکروگرم در میلی‌لیتر دیده شد و تفاوت معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) با دو تیمار دیگر نشان داد. روز ۳۰ ام بیشترین مقدار کلروفیل b در تیمار شاهد به میزان  $0.92 \pm 11/96$  میکروگرم در میلی‌لیتر نشان داده شد که با دو تیمار دیگر تفاوت معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ ); ولی دو تیمار دیگر تفاوت معنی‌داری با هم نشان ندادند. در

مطالعه حاضر بیشترین میزان کلروفیل a و b در تمام روزها در تیمار شاهد (بدون نمک) دیده شد که هایرمد و متد (۱۳) نتایج مشابهی را به دست آوردند. در مطالعه آنها سویه *C. vulgaris* بعد از ۳۰ روز قرارگیری در معرض شوری (کلرید سدیم در محدوده ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ مولار)، تحریک کل کلروفیل‌ها در غلظت‌های کم ۰/۱ و ۰/۲ مولار دیده شده و کاهش در غلظت ۰/۳ تا ۰/۴ مولار را گزارش دادند. همچنین در مطالعه راتومسکی و هاروت پاو (۲۶)، محتوای کلروفیل a در سلول‌های میکروجلبک با افزایش مقدار نیتروژن در محیط کشت کاهش یافت و بیشترین غلظت کلروفیل a در *C. vulgaris* در تیمار ۲۰ درصد فاضلاب آبی‌پروری به‌دست‌آمده از مزارع پرورش سالمون در مقایسه با ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد دیده شد. آنها دلیل این افزایش محتوای رنگدانه را شدت بیشتر فتوسنتز ناشی از نفوذ بهتر نور به سلول‌هایی با زیست‌توده کمتر ارتباط دادند. با این حال، کمبود نیتروژن که مسئول افزایش رنگدانه‌ها در سلول است، باعث کاهش محتوای کلروفیل به عنوان شاخصی از شدت فتوسنتز و فرایندهای فتوشیمیایی در سلول‌های میکروجلبک می‌شود (۲۵). در مطالعه حاضر با افزایش بیشتر زیست‌توده ناشی از مواد مغذی بیشتر در آب محیط کشت جلبک (تیمار آب ژرف + محیط کشت)، میزان کلروفیل کاهش بیشتری نشان داد (جدول ۲). نتایج مشابهی در خصوص رابطه بین افزایش زیست‌توده و کاهش کلروفیل در سلول‌های *C. vulgaris* نیز توسط محسن پور و همکاران (۲۱) ارائه شده است. نتایج متضادی توسط اردوگ و همکاران (۲۲) روی جلبک *Chlorella minutissima* لی و همکاران (۱۵) روی *Neochloris oleoabundans* به دست آمد که رابطه مستقیمی بین میزان نیتروژن و میزان کلروفیل دیدند. در دسترس‌بودن مواد مغذی بر غلظت کلروفیل در سلول‌های ریزجلبک تأثیر می‌گذارد؛ اما بسته به گونه متفاوت است (۵).



جدول ۴. مقایسه میزان تغییرات کلروفیل *a* پس از رشد جلبک *C. vulgaris* در روزهای مختلف آزمایش نمک‌زدایی از آب چاه ژرف

| روزهای آزمایش | شاهد                | آب ژرف بدون محیط کشت | آب ژرف با محیط کشت BG-11 | تیمارهای آزمایشی |
|---------------|---------------------|----------------------|--------------------------|------------------|
| ۴             | $1/0.8 \pm 0/0.5^a$ | $0/7.57 \pm 0/0.3^b$ | $0/5.24 \pm 0/0.1^c$     |                  |
| ۱۰            | $2/0.0 \pm 0/1.4^a$ | $2/3.3 \pm 0/8.1^a$  | $2/1.4 \pm 0/5.1^a$      |                  |
| ۱۷            | $2/3.6 \pm 0/2.1^a$ | $1/3.8 \pm 0/1.7^b$  | $1/4.8 \pm 0/5.9^{ab}$   |                  |
| ۳۰            | $4/9.5 \pm 0/2.0^a$ | $1/1.9 \pm 0/2.4^b$  | $1/7.0 \pm 0/4.5^b$      |                  |

میانگین  $\pm$  انحراف معیار (حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح  $(p < 0.05)$ ) است.

جدول ۵. مقایسه میزان تغییرات کلروفیل *b* پس از رشد جلبک *C. vulgaris* در روزهای مختلف آزمایش نمک‌زدایی از آب چاه ژرف

| روزهای آزمایش | شاهد                 | آب ژرف بدون محیط کشت | آب ژرف با محیط کشت BG-11 | تیمارهای آزمایشی |
|---------------|----------------------|----------------------|--------------------------|------------------|
| ۴             | $0/5.0 \pm 0/0.0^a$  | $0/3.6 \pm 0/0.3^b$  | $0/2.2 \pm 0/0.2^c$      |                  |
| ۱۰            | $0/6.8 \pm 0/0.5^a$  | $0/6.9 \pm 0/2.8^a$  | $0/6.3 \pm 0/1.5^a$      |                  |
| ۱۷            | $0/9.1 \pm 0/3.1^a$  | $0/4.6 \pm 0/1.3^b$  | $0/3.7 \pm 0/1.9^b$      |                  |
| ۳۰            | $11/9.6 \pm 0/9.2^a$ | $0/3.7 \pm 0/1.3^b$  | $0/4.7 \pm 0/0.9^b$      |                  |

میانگین  $\pm$  انحراف معیار (حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح  $(p < 0.05)$ ) است.

#### نمک‌زدایی زیستی آب ژرف توسط جلبک *C. vulgaris*

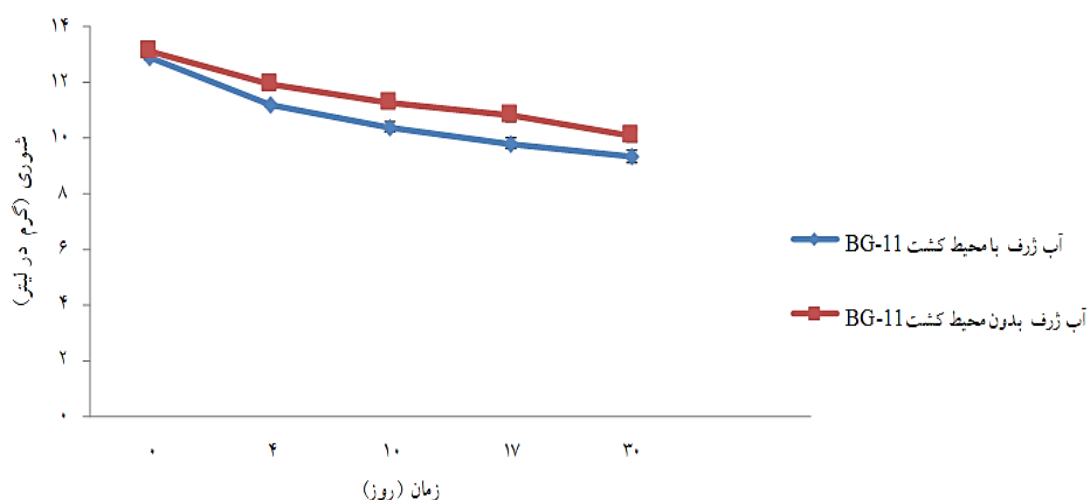
در پژوهش حاضر مقایسه کاهش شوری، هدایت الکتریکی و کل جامدات محلول توسط جلبک *C. vulgaris* کشت‌داده‌شده با تراکم  $10^6 \times 5$  در آب ژرف + محیط کشت BG-11 و آب ژرف بدون محیط کشت بررسی شد. همان‌طور که از جدول ۶ پیداست، میزان شوری آب‌های مورد استفاده به ترتیب ۱۲/۹ و ۱۳/۱ گرم در لیتر در ابتدای آزمایش قبل از اضافه کردن جلبک ثبت شد. مقایسه تغییرات شوری در تیمارهای مختلف در روزهای ۰، ۴، ۱۰، ۱۷ و ۳۰ پس از رشد جلبک *C. vulgaris* در شکل ۳ آورده شده است. در تمام روزهای مورد مطالعه، میزان برداشت شوری در تیمار آب ژرف با محیط کشت BG-11 بیشتر از تیمار آب ژرف بدون محیط کشت بود و تفاوت معنی‌داری بین آنها دیده شد ( $p < 0.05$ ). در پایان دوره آزمایشی نمک‌زدایی، بیشترین میزان برداشت شوری در جلبک *C. vulgaris* رشدیافته در تیمار آب ژرف + BG-11 دیده شد و از میانگین

شوری ۱۲/۹ در ابتدای دوره به  $9/3.4 \pm 0/2.4$  گرم در لیتر در پایان دوره آزمایش رسید و کاهش  $27/60$  درصدی را نشان داد که تفاوت معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) را در مقایسه با آب ژرف که از میانگین ۱۳/۱ به  $10/0.7 \pm 0/2.3$  گرم در لیتر رسید و کاهش  $23/13$  درصدی را نشان داد، داشت. اثر مواد مغذی در محیط کشت جلبک مورد مطالعه بر میزان کل جامدات محلول (TDS) در جدول ۶ آورده شده است که افزایش معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) برداشت این پارامتر در تیمار آب ژرف با محیط کشت از میزان  $16/4$  در ابتدای دوره تا رسیدن به میزان  $12 \pm 0/4$  گرم در لیتر و کاهش  $26/83$  درصدی در مقابل تیمار آب ژرف بدون محیط کشت، افزایش برداشت از میزان  $17/6$  تا  $13/2 \pm 0/4$  گرم در لیتر و کاهش  $25$  درصدی را نشان می‌دهد. مقایسه میزان تغییرات هدایت الکتریکی در پایان دوره ۳۰ روزه در دو تیمار مورد مطالعه، حاکی از بیشترین کاهش این پارامتر از  $28000$  در شروع دوره قبل از اضافه کردن جلبک تا مقدار میانگین  $16350 \pm 350$  میکروزیمنس

جدول ۶. میزان پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب ژرف با محیط کشت و آب ژرف بدون محیط کشت در ابتدای و انتهای دوره

| تیمارهای آزمایشی                 |                                  |                      |                      | پارامترها       |
|----------------------------------|----------------------------------|----------------------|----------------------|-----------------|
| آب ژرف با محیط کشت (انتهای دوره) | آب ژرف با محیط کشت (ابتدای دوره) | آب ژرف (انتهای دوره) | آب ژرف (ابتدای دوره) |                 |
| $9/34 \pm 0/24^b$                | ۱۲/۹                             | $10/07 \pm 0/23^a$   | ۱۳/۱                 | شوری            |
| $12 \pm 0/4^b$                   | ۱۶/۴                             | $13/2 \pm 0/4^a$     | ۱۷/۶                 | کل جامدات محلول |
| $16/350 \pm 350^b$               | ۲۸۰۰۰                            | $17/700 \pm 600^a$   | ۳۰۰۰۰                | هدایت الکتریکی  |

میانگین  $\pm$  انحراف معیار (حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح  $(p < 0/05)$  است).

شکل ۳. مقایسه میزان تغییرات شوری پس از رشد جلبک *C. vulgaris* در روزهای مختلف آزمایش نمک‌زدایی از آب چاه ژرف

وجود مواد مغذی در آن و مصرف توسط جلبک برای سوخت‌وساز خود، متعاقباً از میزان نمک آب کاسته و در نتیجه کاهش چشمگیری در میزان شوری آب دیده شد که می‌تواند کاهش هزینه را برای سیستم نمک‌زدایی بیولوژیکی به دلیل عدم استفاده از محیط کشت تجاری گران‌قیمت به منظور رشد جلبک به همراه داشته باشد. در مطالعه‌ای مشابه که سیستم نمک‌زدایی زیستی بدون استفاده از درشت و ریز مغذی‌های ضروری برای رشد جلبک صورت گرفته بود، بیشترین مقدار برداشت نمک در غلظت ۵۰ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر در جلبک *C. vulgaris* با  $32/66$  درصد کاهش شوری در مقایسه با جلبک *Dunaliella salina* دیده شد. آنها کاهش نمک آب را به دلیل استفاده جلبک‌ها از آن در سوخت‌وساز و رشد و تکثیر خود دانسته و در حقیقت،

بر سانتی‌متر (با میانگین کاهش ۴۱/۶۱ درصدی) در تیمار آب ژرف با محیط کشت بود و تیمار آب ژرف بدون محیط کشت کاهش از میزان ۳۰۰۰۰ تا مقدار  $17700 \pm 600$  میکروموس بر سانتی‌متر (میانگین کاهش ۴۱ درصدی) را داشت که درصد کاهش دو تیمار تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. در پایان دوره آزمایشی ۳۰ روزه نمک‌زدایی از آب چاه ژرف در مطالعه حاضر، بیشترین برداشت شوری، کل جامدات محلول و هدایت الکتریکی در جلبک *C. vulgaris* رشد یافته در تیمار آب ژرف + محیط کشت BG-11 دیده شد که تفاوت معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) را در مقایسه با آب ژرف بدون محیط کشت نشان داد. اگرچه تفاوت‌ها بین دو تیمار معنی‌دار بود؛ ولی با توجه به عدم استفاده از هیچ ماده مغذی اضافی در تیمار آب چاه ژرف و به دلیل

آب در مدت زمان ۳۰ روز، پس می‌توان نتیجه گرفت که فرایند تجمع زیستی؛ یعنی تجمع یون‌های نمک در داخل سلول جلبک بیشتر از فرایند جذب سطحی در این جلبک نقش داشته است. در مطالعه حاضر جذب بیشتر نمک از آب چاه ژرف در تراکم جلبکی  $5 \times 10^6$  سلول در میلی‌لیتر در مقایسه با تراکم‌های کمتر آن  $1 \times 10^6$  و  $2/5$  سلول در میلی‌لیتر بررسی شده در مطالعه سنجولی و همکاران (۲۸) دیده شد که مطابق با نتایج بالاسوبرامانیان و همکاران (۴) مبنی بر کاهش شوری، TDS و EC بیشتر آب دریا ناشی از تراکم بیشتر جلبک *C. vulgaris* بود. مطالعات مشابهی کارایی حذف TDS را متناسب با دوز جلبک گزارش دادند (۷).

### نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که اگرچه کاهش فاکتورهای فیزیکوشیمیایی تیمار آب ژرف + محیط کشت در مقایسه با آب چاه ژرف بدون محیط کشت بیشتر بود و تفاوت‌ها از نظر آماری معنی‌دار بود؛ اما آب ژرف بدون استفاده از محیط کشت تجاری به دلیل وجود مواد مغذی در آن، قابلیت برای رشد جلبک و در نتیجه نمک‌زدایی زیستی را دارد.

این روش را یک روش مؤثر برای از بین بردن شوری آب معرفی کردند (۲۰). کاهش نمک‌های آب توسط جلبک به دو طریق انجام می‌شود: ۱- جذب سطحی با اتصال یون‌های نمک موجود در آب به اجزای دیواره سلولی (هیدروکسی و کربوکسیل) و گروه‌های عاملی موجود روی دیواره سلولی جلبک که یک روش سریع (غیرفعال) و غیروابسته به متابولیسم جلبک است. ۲- فرایند انباشت یا تجمع زیستی شامل حمل‌ونقل نمک در سراسر لایه مرزی و کانال‌های یونی انتخابی و تجمع نمک در سلول‌های جلبک است. این فرایند در مقایسه با جذب سطحی فرایندی نسبتاً کند و زمان‌بر است و نیاز به یک سری از تغییرات فیزیولوژیکی و متابولیکی سلول‌های جلبک دارد. زمانی که نمک‌های بیش از حد ( $Na^+$ ،  $Cl^-$  و یون‌های دیگر) در محیط آبی نمک وجود داشته باشد، نمک‌ها به دلیل گردیدان الکتروشیمیایی به سلول‌های جلبک وارد می‌شوند. مشخص شده است که غلظت زیاد یون  $Na^+$  سیتوپلاسمی برای جلبک‌ها سمی است و عملکرد متابولیسم جلبک و متعاقباً رشد را مهار می‌کند. جلبک‌ها مکانیسم‌های مختلف صادرات را برای یون‌های سمی  $Na^+$  توسعه می‌دهند و در نهایت پس از طولانی مدت به حالت سازگاری پایدار جدیدی می‌رسند (۹). در مطالعه حاضر با توجه به کاهش فاکتورهای فیزیکوشیمیایی

### References

1. Amezaga, J.M., A. Amtmann, C.A. Biggs, T. Bond, C.J. Gandy and A. Honsbein. 2014. Biodesalination: A case study for applications of photosynthetic bacteria in water treatment. *Plant Physiology* 164 (4): 1661–1676.
2. Amin, M., P. Chetpattananondh, M.N. Khan, F. Mushtaq and S.K. Sami. 2018. Extraction and Quantification of Chlorophyll from Microalgae *Chlorella* sp. 2018. In: IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, Baleli, Pakistan.
3. Arashiro, L.T., N. Montero, I. Ferrer, F.G. Acien, C. Gomez and M. Garfi. 2018. Life cycle assessment of high rate algal ponds for wastewater treatment and resource recovery. *Science of The Total Environment* 1(622-623): 1118–1130.
4. Balasubramanian, M., D. Kasiraman and S. Amirtham. 2024. *Chlorella vulgaris* in biodesalination: a sustainable future from seawater to freshwater. *Marine Development* 2(1): 7. DOI:10.1007/s44312-024-00019-0
5. Da Silva Ferreira, V and C. Sant'Anna. 2017. Impact of culture conditions on the chlorophyll content of microalgae for biotechnological applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 33(1):20.

### منابع مورد استفاده

6. Einav, R., K. Harussi, and D. Perry, 2003. The footprint of the desalination processes on the environment. *Desalination* 152(1-3): 141–154.
7. El-Sergany, F.A.R., M. El Fadly and M.H.A. El Nadi. 2014. Brine Desalination by Using Algae Ponds Under Nature Conditions. *American Journal of Environmental Engineering* 4(4): 75-79.
8. Figler, A., V. B-Beres, D. Dobronoki, K. Marton, S.A. Nagi and I. Bacs. 2019. Salt Tolerance and Desalination Abilities of Nine Common Green Microalgae Isolates. *Wastewater Treatment and Reuse* 11(12): 2527.
9. Gao, L., X. Zhang, L. Fan, S. Gray and M. Li. 2021. Algae-Based Approach for Desalination: An Emerging Energy-Passive and Environmentally Friendly Desalination Technology. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering* 9(1): 8663–8678.
10. Ghobashy, M.O.I., O. Bahattab, A. Alatawi, M.M. Aljohani and M.M.I. Helal. 2022. A Novel Approach for the Biological Desalination of Major Anions in Seawater Using Three Microalgal Species: A Kinetic Study. *Sustainability* 14(12): 7018.
11. Hassan, M.K., W. AbouElkheir, A.I. Hashem, M.G. El Malky, A.M. Helal and S.A. Abdelkader. 2023. Artificial seawater biodesalination and biodiesel production using some microalgal species. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries* 27(4): 1181.
12. Hawrot-Paw, M., A. Koniuszy and M. Galczyńska. 2020. Sustainable Production of *Monoraphidium* Microalgae Biomass as a Source of Bioenergy. *Energies* 13(22): 5975.
13. Hiremath, S. and P. Mathad. 2010. Impact of salinity on the physiological and biochemical traits of *Chlorella vulgaris* Beijerinck. *Journal of algal biomass utilization* 1(2):51-59.
14. Jaroo, S.S., G.F. Jumaah and T.R. Abbas. 2019. Photosynthetic microbial desalination cell to treat oily wastewater using microalgae *Chlorella vulgaris*. *Civil Engineering Journal* 5(12): 2686–2699.
15. Li, Y., M. Horsman, B. Wang, N. Wu and C.Q. Lan. 2008. Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 81(4): 629–636.
16. Li, T., J. Xu, B. Gao, W.Z. Xiang and C. Zhang. 2016. Morphology, growth, biochemical composition and photosynthetic performance of *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae) under low and high nitrogen supplies. *Algal Research* 16: 481–491.
17. Louye, B., M.H. El Nadi, N.A.H.E. Nasr and O.D. Monayeri. 2019. Potential use of *Chlorella vulgaris* algae in rapid biological Desalination. *World Journal of Engineering Research and Technology* 5(2): 200-207.
18. Luangpipat, T and Y. Chisti. 2017. Biomass and oil production by *Chlorella vulgaris* and four other microalgae - Effects of salinity and other factors. *Journal of Biotechnology* 257: 47-57.
19. Mehta, S and J. Gaur. 2005. Use of algae for removing heavy metal ions from wastewater: progress and prospects. *Critical Reviews in Biotechnology* 25(3): 113–152.
20. Moayedi, A., B. Yargholi, A. Pazira and H. Hossein Babazadeh. 2022. Biological desalination of brackish and sea water using *Dunaliella salina* and *Chlorella vulgaris* algae. *Journal of Water Management in Agriculture* 9(1): 45-56 (in Farsi).
21. Mohsenpour, S.F., B. Richards and N. Willoughby. 2012. Spectral conversion of light for enhanced microalgae growth rates and photosynthetic pigment production. *Bioresource Technology* 125: 75–81.
22. Ordog, V., W.A. Stirk, P. Balint, J. Staden and C. Lovasz. 2012. Changes in lipid, protein and pigment concentrations in nitrogen-stressed *Chlorella minutissima* cultures. *Journal of Applied Phycology* 24(4): 907–914.
23. Piligaev, A.V., K.N. Sorokina, Y.V. Samoylova and V.N. Parmon. 2019. Production of Microalgal Biomass with High Lipid Content and Their Catalytic Processing Into Biodiesel: A Review. *Catalysis in Industry* 11(4): 349-359.
24. Rahdari, A.A., A. Khosravanizadeh, S. Pakzad Toochei. 2023. Investigation of Sistan deep aquifer well water potential for culturing microalga *Dunaliella tertiolecta*. *Aquatic Physiology and Biotechnology* 11(1): 19-39 (in Farsi).
25. Rai, M.P., T. Gautam and N. Sharma. 2015. Effect of salinity, pH, light intensity on growth and lipid production of microalgae for bioenergy application. *Journal of Biological Sciences* 15(4): 260–267.
26. Ratomski, P., and M. Hawrot-Paw. 2021. Influence of nutrient-stress conditions on *Chlorella vulgaris* biomass production and lipid content. *Catalysts* 11(5): 573.

27. Sahle-Demessie, E., A. Aly Hassan and A. El Badawy. 2019. Bio-desalination of brackish and seawater using halophytic algae. *Desalination* 465: 104-113.
28. Sanchooli, N., A.A. Rahdari and H. Khandan barani. 2025. Use of microalgae *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella vulgaris* in biological desalination of deep aquifer well water in Sistan region-Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 24(5): 1263-1285.
29. Sharma, K.K., H. Schuhmann and P.M. Schenk. 2012. High Lipid Induction in Microalgae for Biodiesel Production. *Energies* 5: 1532–1553.
30. Singh, P., S. Kumari, A. Guldhe, R. Misra, I. Rawat and F. Bux. 2016. Trends and novel strategies for enhancing lipid accumulation and quality in microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 55: 1–16.
31. Tossavainen, M., K. Lahti, M. Edelmann, R. Eskola, A.M. Lampi, V. Piironen, P. Korvonen, A. Ojala and M. Romantschuk. 2019. Integrated utilization of microalgae cultured in aquaculture wastewater: Wastewater treatment and production of valuable fatty acids and tocopherols. *Journal of Applied Phycology* 31: 1753–1763.