Journal of Marin Biology

JOMB
Journal of Marin Biology
J Marin Bio, 2026; 18(1): 23-39 Doi
https://jmb.ahvaz.iau.ir

Islamic Azad university
Ahvaz Branch

Original Article

Comparative evaluation of the bioremediation potential of *Chlorella vulgaris* for light crude oil from the Behregan oil field, in the presence of chemical dispersants (Galmen OD4000 and Slikgon)

Maryam Yali[1], Mozhgan Emtyazjoo[1], Sahar jalili[2*]

1. Department of Marine Biology, NTC, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Department of Fisheries, Arv.C. Islamic Azad University, Abadan, Iran.

Article history:

Received: 15 February 2026
Revised: 17 May 2026
Accepted: 28 May 2026
ePublished: 28 May 2026

***Corresponding author:** Sahar jalil, Department of Fisheries, Arv.C. Islamic Azad University, Abadan, Iran.

E-mail: Sahar.jalili2024@iau.ac.ir

Abstract

Bioremediation of crude oil, as a sustainable approach for reducing hydrocarbon pollution, requires simultaneous optimization of biological and environmental factors. This study investigated the bioremediation efficiency of *Chlorella vulgaris* in combination with two chemical dispersants, Slikgon and Galmen OD4000.The experimental treatments were conducted using Chlorella vulgaris culture medium at three concentrations of Behregan oil field light crude oil (16.25, 32.5, and 48.75 mL), combined with three concentrations of the two dispersants (0.825, 1.625, and 2.43 mL), under three pH levels (5, 7, and 9).Results of crude oil bioremediation in the presence of C. vulgaris and the two dispersants under neutral conditions (pH = 7) showed no statistically significant effect ($p \geq 0.5$). Under acidic conditions (pH = 5), the Galmen OD4000 dispersant exhibited higher efficiency than Slikgon. At alkaline pH (pH = 9), increasing the concentration of Behregan light crude oil led to a reduction in removal efficiency by Slikgon; however, for Galmen OD4000, the removal efficiency increased up to 32.5 mL of oil, followed by a decline at higher concentrations. Nutrient ratio analysis revealed that a phosphorus-to-nitrogen ratio of 1:10 provided the highest biological performance, while excessive nitrogen without proportional phosphorus decreased bioremediation efficiency. Overall, the results indicated that dispersant performance is pH-dependent. Galmen OD4000 showed superior efficiency under both acidic and alkaline conditions, attributed to its higher oil-in-water emulsion stability and better compatibility with the algal cell surface. These findings suggest that simultaneous adjustment of pH, oil concentration, and nutrient ratios can maximize bioremediation efficiency and offer practical guidance for designing biological oil-cleanup systems in contaminated marine environments.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, bioremediation, dispersant, Slikgon, Galmen OD4000.

Please cite this article as follows: Yali M., Emtyazjoo M., Jalili S. Comparative Evaluation of the Bioremediation Potential of *Chlorella vulgaris* for Light Crude Oil from the Behregan Oil Field in the Presence of Chemical Dispersants (Galmen OD4000 and Slikgon. J Mar Bio, 2026; 18(1): 23–39. DOI:

Copyright © 2026 Journal of Marin Biology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (*http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/*) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cite

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-10-31]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، صفحات: ۲۳-۳۹
https://jmb.ahvaz.iau.ir

مقاله اصلی

مقایسه ظرفیت زیست پالایی جلبک *کلرلا ولگاریس* (*Chlorella vulgaris*) در حذف نفت خام سبک بهرگان در حضور دو پراکنده ساز گملن OD4000–اسلیک گان

مریم یلی[۱]، مژگان امتیازجو[۱]، سحر جلیلی[۲*]

۱. گروه بیولوژی دریا، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲. گروه شیلات، واحد بین‌الملل اروند، دانشگاه آزاد اسلامی، آبادان، ایران.

چکیده

زیست‌پالایی با استفاده از میکروجلبک‌ها رویکردی مؤثر و سازگار با محیط‌زیست برای کاهش آلودگی‌های نفتی است، اما کارایی آن به شرایط فیزیکی و شیمیایی محیط وابسته است. در این پژوهش، عملکرد جلبک *Chlorella vulgaris* در حذف نفت خام سبک بهرگان ـ که به‌دلیل مصرف گسترده در صنایع جنوب ایران و احتمال ورود به محیط‌های ساحلی اهمیت زیست‌محیطی بالایی دارد ـ طی یک دوره انکوباسیون ۲۱ روزه بررسی شد. سه عامل pH (۵، ۷ و ۹)، نوع پراکنده‌ساز (اسلیک‌گان و گملن OD4000) و غلظت نفت ۱۶/۲۵، ۳۲/۵و ۴۸/۷۵ (mL/L) در قالب طرح آزمایشی سه‌راهه ارزیابی شدند تا اثرات اصلی و تعاملی آن‌ها بر راندمان زیست‌پالایی مشخص شود.نتایج تحلیل واریانس نشان داد که هر سه عامل pH ($p=0.047$) ، نوع پراکنده‌ساز ($p<0.001$) و غلظت نفت ($p<0.001$) اثر معنی‌داری بر حذف نفت دارند و تمامی اثرات متقابل نیز معنی‌دار بودند ($p<0.05$). بیشترین راندمان حذف در نسبت مغذی ۱:۱۰ فسفر به نیتروژن مشاهده شد و راندمان‌های حاصل در سه غلظت نفت به‌ترتیب ۵۸/۸، ۶۲/۸ و ۵۶/۶درصد بود. همچنین کارایی پراکنده‌ساز گملن OD4000 در pH=۵ بیشترین مقدار را نشان داد، در حالی‌که در pH=۹ این برتری تنها تا غلظت ۳۲.۵ میلی‌لیتر نفت حفظ شد و در غلظت‌های بالاتر کاهش راندمان مشاهده گردید. این الگو بیانگر حساسیت بالای فرآیند زیست‌پالایی به نوسانات pH، نوع ماده کمکی و شدت آلودگی نفتی است.به‌طور کلی، یافته‌ها نشان می‌دهد که *Chlorella vulgaris* توان بالقوه قابل‌توجهی در حذف ترکیبات نفتی دارد، اما دستیابی به بیشترین بازده تنها در صورت تنظیم هم‌زمان pH مناسب، انتخاب پراکنده‌ساز کارآمد، کنترل بار آلودگی نفتی و تأمین نسبت بهینهٔ عناصر مغذی امکان‌پذیر است. این نتایج می‌تواند در طراحی سامانه‌های پاکسازی زیستی مؤثرتر برای محیط‌های ساحلی و صنعتی آلوده به نفت به‌کار گرفته شود و مبنایی عملی برای توسعه روش‌های کم‌هزینه و پایدار در مدیریت آلودگی‌های نفتی فراهم آورد.

واژگان کلیدی: *Chlorella vulgaris*، زیست‌پالایی نفت خام ، اسلیک گان ،گملن OD4000.

تاریخچه مقاله
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۱۱/۲۶
تاریخ ویرایش مقاله: ۱۴۰۵/۲/۲۷
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۵/۳/۷
تاریخ انتشار مقاله: ۱۴۰۵/۳/۷

تمامی حقوق برای دانشگاه آزاد اهواز محفوظ است.

* نویسنده مسئول: سحر جلیلی، گروه شیلات، واحد بین‌الملل اروند، دانشگاه آزاد اسلامی، آبادان، ایران.

ایمیل:
Sahar.jalili2024@iau.ac.irr

استناد: یلی، مریم؛ امتیازجو، مژگان؛ جلیلی، سحر. مقایسه ظرفیت زیست‌پالایی جلبک کلرلا ولگاریس (*Chlorella vulgaris*) در حذف نفت خام سبک بهرگان در حضور دو پراکنده‌ساز گملن OD4000–اسلیک‌گان. مجله زیست شناسی دریا، بهار ۱۴۰۵؛ ۱۸(۱): ۲۳-۳۹

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-10-31]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، صفحات: ۲۳-۳۹
https://jmb.ahvaz.iau.ir

مقدمه

آلودگی‌های نفتی به‌عنوان یکی از چالش‌های عمده زیست‌محیطی در عصر حاضر شناخته می‌شوند. روزانه میلیون‌ها تُن ترکیبات هیدروکربنی شامل اجزای سبک و سنگین نفتی، هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (PAHs) و مشتقات مرتبط به آن به آب‌های سطحی و دریایی وارد می‌گردد (Sheikh Abdullah et al., 2020). این ترکیبات به‌دلیل سمیت، پایداری شیمیایی و مقاومت در برابر تجزیه طبیعی، ظرفیت خودپالایی اکوسیستم‌های آبی را کاهش داده و می‌توانند پیامدهای جدی برای تنوع زیستی و سلامت انسان به‌همراه داشته باشند.

منابع اصلی انتشار این آلاینده‌ها شامل نشت از چاه‌ها و سکوهای استخراج، شکست خطوط انتقال و وقوع سوانح در فرآیند حمل‌ونقل نفت است. ازاین‌رو، انتخاب و به‌کارگیری راهکارهای کارآمد برای کنترل و حذف آلودگی‌های نفتی نیازمند توجه هم‌زمان به ملاحظات زیست‌محیطی، هزینه‌های اجرایی و کارایی بلندمدت روش‌ها است (Smith & Lee, 2022).

در یک تقسیم‌بندی کلی، روش‌های حذف لکه‌های نفتی به سه دسته فیزیکی، شیمیایی و زیستی تقسیم می‌شوند. در میان این رویکردها، زیست‌پالایی به‌دلیل سازگاری با محیط‌زیست، هزینه پایین‌تر و امکان حذف پایدارتر آلاینده‌ها، مورد توجه فزاینده پژوهشگران قرار گرفته است. در این فناوری، میکروارگانیسم‌ها مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها و ریزجلبک‌ها با بهره‌گیری از فرایندهای متابولیکی، موجب تجزیه یا کاهش غلظت هیدروکربن‌های نفتی در محیط‌های آلوده می‌گردند.

در سال‌های اخیر، مطالعات متعددی نشان داده‌اند که برخی گونه‌های ریزجلبکی قادرند طی فرایندهای اکسیداسیون زیستی، طیف گسترده‌ای از هیدروکربن‌های نفتی را به ترکیبات ساده‌تر و کم‌خطرتر تبدیل کنند؛ موضوعی که ظرفیت بالای این موجودات را برای کاربرد در سامانه‌های پالایش زیستی مورد تأیید قرار می‌دهد (Song *et al.*, 2022; El-Sheikh *et al.*, 2013). با این حال، همچنان برای درک دقیق مکانیسم‌های مؤثر و همچنین شناخت عوامل محیطی کلیدی بر کارایی این فرایندها، به پژوهش‌های بیشتری نیاز است.

از سوی دیگر، گیاهان آبزی نیز در کنار میکروارگانیسم‌ها نقش مهمی در بهبود عملکرد زیست‌پالایی دارند. به‌ویژه گونه‌های ریشه‌دار مانند: *Eichhornia crassipes* (سنبل آبی)، *Lemna minor* (عدسک آبی) و *Typha latifolia* (نی) از طریق توسعه سیستم ریشه‌ای و افزایش سطح تماس، امکان تعامل بیشتر آلاینده‌ها با جوامع میکروبی تجزیه‌کننده را فراهم می‌کنند و در نتیجه نرخ تجزیه زیستی هیدروکربن‌ها را افزایش می‌دهند (Hunt *et al.*, 2018; Singh *et al.*, 2019). همچنین استقرار این گیاهان می‌تواند غلظت ترکیبات نفتی را کاهش داده و به احیای پارامترهای اکولوژیکی و بازیابی پویایی زیست‌بوم‌های تخریب‌شده کمک کند (Patel, 2019; Khtar *et al.*, 2023). علاوه بر نقش مستقل گیاهان، گزارش شده است که هم‌افزایی میان گیاهان آبزی و میکروارگانیسم‌ها، راندمان حذف آلاینده‌ها را به‌طور چشمگیری افزایش می‌دهد. به عنوان نمونه، سامانه‌های همزیست شامل *Lemna minor* و باکتری‌های نفت‌خوار قادرند حذف هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای را تا بیش از ۹۰٪ افزایش دهند.

افزون بر جذب مستقیم ترکیبات آلاینده، گیاهان آبزی با ترشح ترکیبات آلی، تولید و تنظیم شرایط اکسیژن‌دار/بی‌اکسیژن در ناحیه ریزوسفری و همچنین کمک به فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو، فرآیند تخریب هیدروکربن‌ها را تسهیل می‌کنند (Boter *et al.*, 2024). بنابراین، رویکرد گیاه‌پالایی به‌عنوان یک راهکار پایدار، اقتصادی و سازگار با محیط‌زیست، برای مدیریت آلودگی‌های نفتی مورد توجه قرار گرفته است (Doe *et al.*, 2024). همچنین در برخی مطالعات، استفاده هم‌زمان از جلبک‌ها و سایر میکروارگانیسم‌ها (از جمله سیانوباکتری‌ها) به‌عنوان راهبردی برای حذف آلاینده‌ها همراه با تولید بیوانرژی پیشنهاد شده است (Hamounda et *al.*, 2023).

با این پیشینه، تمرکز بر گونه‌های مشخص ریزجلبکی در حذف آلاینده‌های نفتی اهمیت ویژه‌ای دارد. در این میان، گونه *Chlorella vulgaris* به‌عنوان یک ریزجلبک سبز با نرخ رشد بالا و توانایی تحمل نسبی در برابر آلاینده‌های نفتی شناخته می‌شود. گزارش شده است که *C. vulgaris* در حضور نفت خام و نیز ترکیبات هیدروکربنی آروماتیک چندحلقه‌ای قادر است بخش قابل توجهی از این آلاینده‌ها را در مدت زمان نسبتاً کوتاهی

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-10-31]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، صفحات: ۲۳-۳۹
https://jmb.ahvaz.iau.ir

کاهش دهد. همچنین در برخی شرایط آزمایشگاهی افزایش تولید زیست‌توده در حضور آلاینده‌ها مشاهده شده که می‌تواند بیانگر سازگاری متابولیکی این ریزجلبک با محیط‌های آلوده باشد (Amaral *et al.*, 2023).

علاوه بر قابلیت‌های ذاتی *C. vulgaris*، شرایط کشت نیز نقش تعیین‌کننده‌ای دارد. پژوهش‌ها نشان می‌دهند که در شرایط میکسوتروفیک (ترکیبی از فتوسنتز و جذب مواد آلی)، *Chlorella vulgaris* در غلظت‌های مشخصی از نفت خام تا حدود ۱درصد توانایی قابل توجهی برای تجزیه ترکیبات نفتی دارد. در این راستا، تغییرات در رنگیزه‌های فتوسنتزی و الگوی رشد جلبک در پاسخ به سطوح مختلف نفت گزارش شده است که بر لزوم بهینه‌سازی شرایط عملیاتی برای دستیابی به کارایی مطلوب تأکید می‌کند (Chinwe, 2024). همچنین افزودن *C. vulgaris* به محیط‌های آبی آلوده می‌تواند فعالیت میکروارگانیسم‌های بومی را تحریک کرده و مسیر تخریب ترکیبات نفتی را تسریع نماید؛ به‌گونه‌ای که در چنین سامانه‌هایی، برهم‌کنش میان جلبک و جوامع میکروبی موجب افزایش کارایی حذف آلاینده می‌شود (Ugboma *et al.*, 2023; Zhao *et al.*, 2023).

مطالعات مقایسه‌ای نیز نشان داده‌اند که *C. vulgaris* به دلیل ویژگی‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی، می‌تواند گزینه مناسبی برای استفاده در سامانه‌های زیستی تصفیه محیط‌های آبی آلوده به نفت باشد؛ از جمله اینکه *Skeletonema costatum* نیز در برخی پژوهش‌ها به‌عنوان گونه مقایسه‌ای به کار رفته است (Xaaldi Kalhor et *al.*, 2016; El-Sheikh *et al.*, 2013). با این حال، نرخ رشد و فعالیت متابولیکی ریزجلبک‌ها به عوامل غیرزیستی متعددی از جمله شدت نور، دما و در دسترس بودن مواد مغذی وابسته است (Olukunle *et al.*, 2013). بنابراین، رسیدن به عملکرد بهتر در فرآیند زیست‌پالایی نیازمند تعیین شرایط بهینه برای کشت و فعال‌سازی *C. vulgaris* در حضور نفت است (Xaaldi Kalhor *et al.*, 2017).

با توجه به افزایش روند آلودگی‌های نفتی در اکوسیستم‌های آبی و نیز نیاز به توسعه فناوری‌های مؤثر و سازگار با محیط‌زیست، پژوهش حاضر بر آن است تا نقش *Chlorella vulgaris* را در حذف هیدروکربن‌های نفتی بررسی کند. همچنین هدف تحقیق، ارزیابی اثر دو نوع پراکنده‌ساز در کنار *C. vulgaris* و تعیین شرایط بهینه برای دستیابی به بیشترین کارایی در فرآیند زیست‌پالایی است.

مواد و روش‌ها

کشت جلبک

ریزجلبک *Chlorella vulgaris* از پارک علم و فناوری ایران (تهران) تهیه شد. کشت جلبک در آکواریوم‌های شیشه‌ای تحت تابش نور فلورسنت با شدت ۲۰۰۰ لوکس (۱۰۰۰×۲ لوکس) و با دوره نوری ۱۶:۸ ساعت (نور:تاریکی) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انجام گرفت. برای رشد جلبک از محیط کشت Convey استفاده شد (جدول ۱). کشت‌ها در بالن‌های ارلن‌مایر انجام شدند و تغییرات چگالی سلولی به‌صورت روزانه (هر ۲۴ ساعت) و در سه تکرار مورد پایش قرار گرفت. شمارش کمی سلول‌ها با استفاده از لام هموسیتومتر انجام شد (Vaičiulytė *et al.*, 2014).

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-10-31]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، صفحات: ۲۳-۳۹
https://jmb.ahvaz.iau.ir

جدول ۱. ترکیب محیط کشت Convey مورد استفاده برای *Chlorella vulgaris*

ردیف	ترکیب شیمیایی	فرمول شیمیایی	غلظت (g/L)
۱	نیترات پتاسیم	KNO_3	۱۰۰
۲	دی‌سدیم اتیلن دی‌آمین ترا استیک اسید	Na_2EDTA	۴۵
۳	اسید بوریک	H_3BO_3	۳۳/۶
٤	دی‌هیدروژن فسفات سدیم مونو هیدرات	$NaH_2PO_4.4H_2O$	۲۰
٥	آهن (III) کلرید هگزا هیدرات	$FeCl_3.6H_2O$	۱/۳
٦	منگنز (II) کلرید	$MnCl_2$	۰/۳۶
۷	روی (II) کلرید	$ZnCl_2$	۲۱
۸	کبالت (II) کلرید هگزا هیدرات	$CoCl_2.6H_2O$	۲۰
۹	آمونیوم مولیبدات تتراهیدرات	$(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$	۹
۱۰	مس (II) سولفات پنتا هیدرات	$CuSO_4.5H_2O$	۲۰
۱۱	سدیم سیلیکات	Na_2SiO_3	۲۰
۱۲	ویتامین B1 (تیامین)	-	۲
۱۳	ویتامین B12 (کوبالامین)	-	۰/۱

آماده سازی محلول ها جهت در معرض گذاری

نفت خام سبک میدان بهرگان در خلیج فارس به‌صورت تازه و بدون اعمال فرایند هوازدگی از شرکت نفت فلات قاره ایران تهیه و استفاده شد. جهت بررسی اثرات سطوح مختلف آلودگی نفتی بر توان زیست‌پالایی ریزجلبک *Chlorella vulgaris*، سه غلظت نفت خام شامل ۱۶/۲۵، ۳۲/۵۰ و ۴۸/۷۵ میلی‌لیتر در هر لیتر محیط کشت به‌عنوان تیمارها انتخاب گردید. محدوده غلظت‌های مذکور بر پایه مطالعات مشابه پیشین (Flayyih & AL Magdamy, 2025; Zhao *et al.*, 2023) و نتایج آزمایش‌های مقدماتی جهت پوشش دامنه سمیت زیرکشنده تا نزدیک به آستانه سمیت حاد تعیین شد تا اثرات آن بر رشد و راندمان زیست‌پالایی ارزیابی گردد.

محاسبه نسبت نفت به پراکنده ساز (O:D Ratio)

این نسبت به سادگی مقدار نفت موجود در لکه را به مقدار پراکنده سازی که باید روی آن اعمال شود، مرتبط می‌سازد (رابطه شماره۱)

$$\text{رابطه شماره ۱:} \quad \text{نسبت نفت به پراکنده ساز} = \frac{\text{حجم یا جرم نفت}}{\text{حجم یا جرم پراکنده ساز}}$$

در این پژوهش، نسبت نفت به پراکنده‌ساز بر اساس رابطه (۱) تعیین گردید. برای پراکنده‌ساز Slickgone از نسبت ۱:۲۰ (یک واحد حجمی پراکنده‌ساز به ازای ۲۰ واحد حجمی نفت) و برای پراکنده‌ساز Gamlen OD4000 از نسبت ۱:۳۰ استفاده شد. انتخاب این نسبت‌ها بر اساس مطالعات پیشین (شمسی‌زاده، ۱۳۹۱؛ امتیازجو و همکاران، ۱۳۹۴) و دستورالعمل‌های کاربردی در شرایط مشابه دریایی انجام گرفت.پراکنده‌سازهای مورد استفاده از فهرست مواد مورد تأیید سازمان منطقه‌ای حفاظت از محیط زیست دریایی (ROPME) برای خلیج فارس انتخاب و از شرکت ملی نفت فلات قاره ایران تهیه شدند.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-10-31]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، صفحات: ۲۳-۳۹
https://jmb.ahvaz.iau.ir

معرض گذاری نمونه ها

پیش‌تیمار جلبک

ریزجلبک *Chlorella vulgaris* در محیط کشت کانوی و تحت شرایط کنترل‌شده آزمایشگاهی نگهداری و تکثیر شد. به‌منظور حذف اثرات کربن آلی باقی‌مانده از محیط‌های کشت پیشین و ایجاد سازگاری فیزیولوژیک در سلول‌ها، پیش از آغاز آزمایش‌ها کشت جلبکی به‌مدت ۹۶ ساعت در محیط فاقد هرگونه منبع کربن آلی نگهداری شد. در این مرحله، تأمین کربن محدود به کربن معدنی موجود در هوا بود. هدف این پیش‌تیمار، تثبیت وضعیت متابولیکی سلول‌ها و کاهش ذخایر کربن درون‌سلولی بود تا در فاز آزمایشی، هیدروکربن‌های نفتی به‌عنوان تنها منبع کربن آلی قابل ارزیابی باشند.

یکنواخت‌سازی سوسپانسیون جلبکی

در پایان مرحله پیش‌تیمار، سوسپانسیون جلبکی به‌منظور یکسان‌سازی تراکم سلولی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. بر این اساس، کدری نوری (Optical Density; OD) سوسپانسیون در مقدار مشخصی تنظیم گردید. این اقدام سبب شد تمامی راکتورها با تراکم اولیه سلولی یکسان آغاز شوند و در نتیجه، تفاوت‌های مشاهده‌شده در طول آزمایش تنها ناشی از اثر تیمارهای اعمال‌شده باشد.

آماده‌سازی راکتورهای آزمایشی

برای آماده‌سازی هر راکتور، ابتدا ۲۵۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون یکنواخت‌شده جلبک به ۵۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت تازه کانوی افزوده شد تا حجم اولیه سامانه به ۷۵۰ میلی‌لیتر برسد. در ادامه، مقادیر تعیین‌شده نفت خام سبک خلیج فارس-بهرگان و پراکنده‌سازهای مورد استفاده بر اساس غلظت‌های تیماری به این حجم اولیه افزوده شدند. پس از افزودن نفت و پراکنده‌ساز، حجم نهایی هر راکتور با استفاده از محیط کشت کانوی تا مقدار دقیق ۱۰۰۰ میلی‌لیتر تنظیم گردید. بر این اساس: نفت خام و پراکنده‌ساز جزئی از حجم نهایی ۱۰۰۰ میلی‌لیتری محاسبه شدند. تمامی غلظت‌های تیماری بر پایه حجم نهایی ۱ لیتر محاسبه شده‌اند. افزایش حجم پس از افزودن نفت و پراکنده‌ساز انجام شده است.

به‌منظور استانداردسازی زیست‌توده اولیه، تمامی راکتورها با استفاده از ۲۵۰ میلی‌لیتر کشت فعال *Chlorella vulgaris* در فاز رشد نمایی تلقیح شدند که به ۵۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت تازه کانوی افزوده شد. تمامی تیمارها از یک کشت مادر واحد و هم‌زمان تهیه گردیدند تا شرایط فیزیولوژیک اولیه کاملاً یکنواخت باشد. اگرچه اندازه‌گیری کمی غلظت زیست‌توده (شامل OD، تعداد سلول یا وزن خشک) در چارچوب پایان‌نامه انجام نشد، استفاده از حجم تلقیح ثابت و منبع کشت مشترک، یکنواختی زیست‌توده اولیه در تمام تیمارها را تضمین نمود. از آنجا که هدف پژوهش حاضر ارزیابی مقایسه‌ای عملکرد حذف زیستی نفت تحت تیمارهای مختلف بود و نه بررسی رشد کمی زیست‌توده، این رویکرد برای حفظ اعتبار درون‌آزمایشی کفایت داشت.

تمامی راکتورها در دمای ثابت ۱ ± ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. نوردهی با استفاده از لامپ‌های LED سفید با شدت حدود ۳۵۰۰ لوکس و در فاصله تقریباً ۲۰ سانتی‌متری انجام گرفت. چرخه نوری شامل ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود و در طول پژوهش ثابت نگه داشته شد.

pH محیط نیز در سه سطح ۵، ۷ و ۹ تنظیم شد تا اثر شرایط اسیدی، خنثی و قلیایی بر حذف زیستی نفت مورد ارزیابی قرار گیرد. به‌منظور تأمین دی‌اکسیدکربن مورد نیاز برای فتوسنتز، جلوگیری از ته‌نشینی سلول‌ها و ایجاد اختلاط مطلوب بین فاز آبی و نفتی، تمامی راکتورها تحت هوادهی پیوسته قرار گرفتند. هوادهی توسط پمپ آزمایشگاهی Aquanic ACO-6602 با دبی تقریبی ۱/۵ لیتر در دقیقه انجام شد. هوا پیش از ورود به سامانه از فیلتر ۰/۲۲ میکرومتری عبور داده شد. توزیع هوا از طریق سنگ هواده حباب‌ریز صورت گرفت که موجب اختلاط ملایم، یکنواخت و پایدار در محیط کشت شد بدون آن‌که تنش مکانیکی اضافی به سلول‌ها وارد شود.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-10-31]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، صفحات: ۲۳-۳۹
https://jmb.ahvaz.iau.ir

تیمارهای نفت و پراکنده‌ساز

در این پژوهش از دو پراکنده‌ساز تجاری Slickgone و Gamlen OD4000، دارای تأییدیه ROPME، استفاده شد. غلظت پراکنده‌سازها در سه سطح ۰/۸۲۵، ۱/۶۲۵ و ۱/۴۳ (mL/L) تنظیم گردید. نفت خام سبک بهرگان در تمامی تیمارها با غلظت ثابت افزوده شد. انتخاب این محدوده غلظتی با توجه به آزمون‌های مقدماتی و دامنه کاربرد عملی در عملیات مقابله با نشت نفت صورت گرفت.

نگهداری نمونه‌ها پیش از استخراج و آنالیز

نمونه‌ها پس از برداشت، در دمای ۱ ± ۱ درجه سلسیوس و به‌مدت کمتر از ۲۴ ساعت نگهداری شدند و سپس بلافاصله تحت استخراج و آنالیز قرار گرفتند. نگهداری کوتاه‌مدت در دمای پایین به‌منظور جلوگیری از تغییرات زیستی، تبخیر اجزای فرار و اکسیداسیون هیدروکربن‌ها انجام شد.

جدول ۲. مشخصات تیمارهای مطالعه حاضر (نفت خام بهرگان ، پراکنده ساز اسلیک گان و گملن OD4000)

مشخصات	غلظت نفت (ml/L)	غلظت پراکنده ساز اسلیک گان (ml/L)	غلظت پراکنده سازگملن (ml/L)
تیمار ۱	۱۶/۲۵	۰/۸۲۵	–
تیمار ۲	۳۲/۵	۱/۶۲۵	–
تیمار ۳	۴۸/۷۵	۲/۴۳	–
تیمار ٤	۱۶/۲۵	–	۰/۸۲۵
تیمار ٥	۳۲/۵	–	۱/۶۲۵
تیمار ٦	۴۸/۷۵	–	۲/۴۳

آنالیز شیمیایی

استخراج و آماده‌سازی هیدروکربن‌های نفتی برای آنالیز طیفی

به‌منظور جداسازی و خالص‌سازی ترکیبات هیدروکربنی از نمونه‌های آلوده به نفت، فرآیند استخراج مایع-مایع با اصلاحات جزئی و بر اساس پروتکل گزارش‌شده توسط شهابی و همکاران (۱۳۸۸) مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا، ۵۰ میلی‌لیتر از نمونه‌های هموژن‌شده محیط کشت آلوده برداشت شد. عملیات استخراج در دو مرحله پی‌درپی انجام شد تا بازیابی کامل اجزای هیدروکربنی تضمین شود. در هر مرحله، ۱۰ میلی‌لیتر حلال تتراکلریدکربن (CCl_4) با گرید مخصوص آنالیز افزوده و پس از اختلاط مناسب، جداسازی فاز آلی انجام پذیرفت. فازهای آلی حاصل ادغام شده و به‌عنوان عصاره خام هیدروکربنی به کار گرفته شدند.اگرچه در بسیاری از پروتکل‌های جدید از n-hexane یا dichloromethane (DCM) استفاده می‌شود، انتخاب تتراکلریدکربن در این مطالعه با دو دلیل اصلی انجام گرفت: (۱) قابلیت استخراجی بسیار بالا برای هیدروکربن‌های اشباع و آروماتیک سنگین، که کارایی آن را در بررسی تخریب نفت خام افزایش می‌دهد؛ (۲) سازگاری طیفی مناسب با آنالیز FT-IR و ایجاد حداقل نویز در محدوده باندهای هیدروکربنی، موضوعی که در روش مرجع نیز مورد تأکید قرار گرفته است.با توجه به سمیت و طبقه‌بندی این ماده به‌عنوان Carcinogen Class I، تمامی مراحل کار تنها در هود شیمیایی و با تهویه کامل انجام شد و از دستکش نیتریلی، عینک و ظروف مقاوم در برابر حلال استفاده گردید تا تماس، استنشاق یا انتشار بخارات به حداقل برسد. برای حذف ناخالصی‌های قطبی، فسفولیپیدها، مواد آلی محلول و باقی‌مانده‌های زیستی، عصاره خام از یک ستون کروماتوگرافی شیشه‌ای با طول ۲۰ سانتی‌متر و قطر داخلی ۱ سانتی‌متر عبور داده شد. بستر ستون شامل مخلوطی **از** آلومینای فعال و فلوروسیل با نسبت جرمی ۱:۱ بود که عملکرد مناسبی در حذف ترکیبات ناخواسته و افزایش خلوص نهایی عصاره دارد. در ادامه، فاز آلی جمع‌آوری‌شده از یک لایه سولفات سدیم بدون آب (granular) عبور داده شد تا هرگونه رطوبت باقی‌مانده حذف گردد و محلول نهایی کاملاً خشک و برای آنالیز آماده شود.محلول خالص‌شده نهایی حاوی هیدروکربن‌های نفتی، مستقیماً برای تحلیل طیف‌سنجی مادون

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-10-31]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، صفحات: ۲۳–۳۹
https://jmb.ahvaz.iau.ir

قرمز (FT-IR) مورد استفاده قرار گرفت. تغییرات در باندهای مشخصه شامل C–H، C=C و C=O به‌عنوان شاخص کیفی تخریب زیستی اجزای نفت خام پس از تیمار جلبکی مورد بررسی قرار گرفت (Bordbare *et al.*, 2008).

اندازه‌گیری مجموع هیدروکربن‌های نفتی (Total Petroleum Hydrocarbons) با طیف‌سنج مادون قرمز

اندازه‌گیری مجموع هیدروکربن‌های نفتی (TPHs) در فاز آلی استخراج‌شده با استفاده از طیف‌سنج مادون‌قرمز تبدیل فوریه (FT-IR) و بر اساس روش گزارش‌شده توسط (Pisal, 2011) انجام شد. این روش بر پایه اندازه‌گیری جذب ارتعاشات کششی پیوندهای C–H در هیدروکربن‌های آلیفاتیک در محدوده ۲۸۵۰–۲۹۳۰ cm^{-1} است. در این مطالعه، باند جذب ۲۹۲۰ cm^{-1} که مربوط به ارتعاشات کششی گروه‌های متیل و متیلن است به‌عنوان پیک اصلی برای کمی‌سازی انتخاب شد.

برای تهیه منحنی کالیبراسیون، محلول‌های استاندارد نفت خام در حلال تتراکلریدکربن (CCl_4) با غلظت‌های ۰، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/L آماده گردید. جذب (A) هر استاندارد در باند ۲۹۲۰ cm^{-1} اندازه‌گیری و منحنی کالیبراسیون خطی با روش حداقل مربعات ترسیم شد. رابطه کمی به‌صورت زیر به‌دست آمد:

$$C = (A - b) / m$$

که در آن C غلظت TPH بر حسب mg/L، A جذب، m شیب و b عرض از مبدأ است. ضریب همبستگی ($R^2 = 0.997$) بیانگر دقت و خطیّت مناسب منحنی در بازه انتخابی بود.پس از استخراج، فاز آلی برای حذف رطوبت احتمالی از میان سولفات سدیم بدون آب عبور داده شد و هیچ‌گونه تبخیر یا تغلیظ حلال انجام نشد تا از اتلاف ترکیبات فرّار جلوگیری شود و اندازه‌گیری TPH با بیشترین دقت انجام گیرد. نمونه‌ها مستقیماً در سل مخصوص دستگاه FT-IR ریخته شدند و طیف در محدوده ۴۰۰۰-۴۰۰ cm^{-1} ثبت گردید. میزان جذب در پیک ۲۹۲۰ cm^{-1} استخراج و غلظت نهایی TPH با استفاده از معادله کالیبراسیون محاسبه شد.

آنالیز آماری

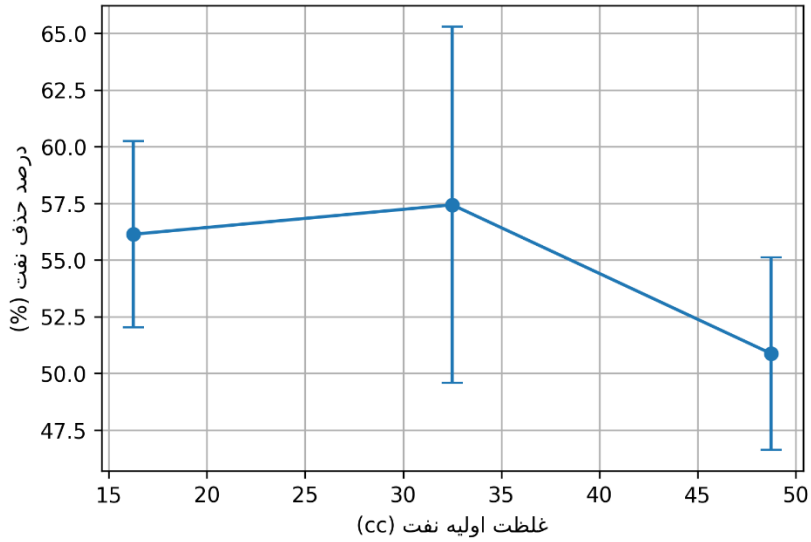
برای مقایسه اثرات غلظت نفت و استفاده از پراکنده‌سازها بر راندمان زیست‌پالایی توسط *کلرلا ولگاریس* (*Chlorella vulgaris*)، داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA) مورد ارزیابی قرار گرفت. هر تیمار با سه تکرار مستقل انجام شد تا اطمینان از تکرارپذیری و صحت نتایج حاصل شود. پس از بررسی فرضیات نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی توکی (Tukey's HSD) انجام شد تا تفاوت‌های معنی‌دار بین گروه‌ها مشخص شود. تمامی تحلیل‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۱۹ و Microsoft Excel 2016 انجام گرفت. سطح معناداری آماری برای تمام آزمون‌ها $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج مربوط به تغییرات درصد حذف نفت خام توسط *Chlorella vulgaris* در غلظت‌های مختلف اولیه نفت در شکل مربوطه ارائه شده است. بر اساس داده‌های به‌دست‌آمده، میانگین حذف نفت در غلظت‌های ۱۶/۲۵، ۳۲/۵۰ و ۴۸/۷۵ (ml/L) به‌ترتیب ۵۶/۱۳، ۵۷/۴۳ و ۵۰/۸۷ درصد محاسبه شد. بیشترین مقدار حذف در غلظت ۳۲/۵۰ مشاهده گردید، در حالی که با افزایش غلظت نفت به ۴۸/۷۵ میزان حذف کاهش یافت. همچنین مقدار انحراف معیار در غلظت ۳۲/۵۰ نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود که بیانگر تغییرپذیری بالاتر داده‌ها در این سطح غلظتی است (شکل ۱).

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-10-31]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، صفحات: ۲۳-۳۹
https://jmb.ahvaz.iau.ir



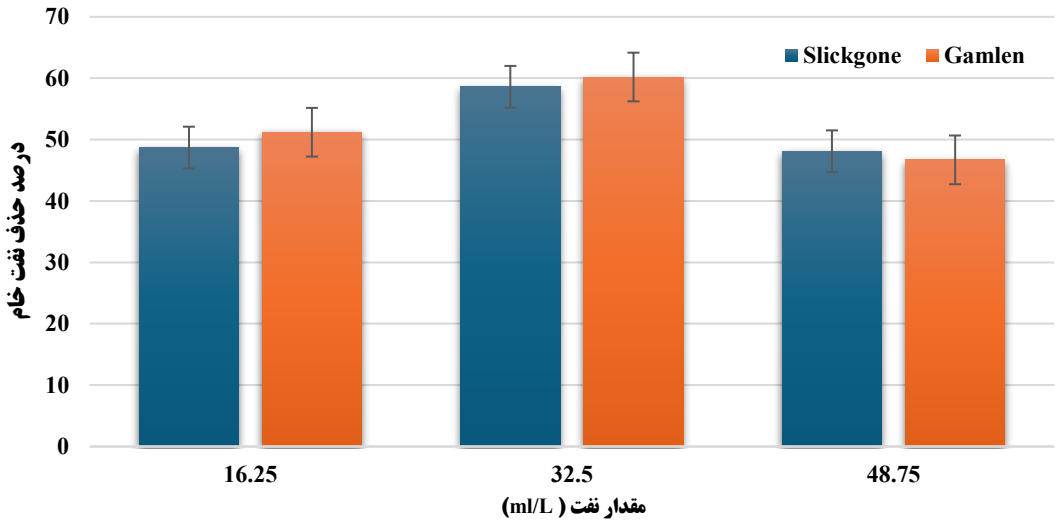
شکل ۱. میانگین و انحراف معیار درصد حذف نفت خام توسط *Chlorella vulgaris* در سه سطح غلظت اولیه

نفت

نتایج حاصل از زیست‌پالایی نفت خام بهرگان توسط جلبک *Chlorella vulgaris* در حضور دو پراکنده‌ساز شیمیایی و در شرایط pH=7 (خنثی) در شکل ۲ ارائه شده است. ارزیابی عملکرد این دو پراکنده‌ساز در شش تیمار آزمایشی نشان داد که از نظر آماری تفاوت معناداری میان کارایی آن‌ها در حذف نفت مشاهده نشد. این موضوع نشان می‌دهد که هر دو پراکنده‌ساز از نظر توانایی اولیه در برهم زدن لایه نفتی و افزایش قابلیت دسترسی زیستی هیدروکربن‌ها، در این سیستم زیستی-شیمیایی عملکردی مشابه دارند. با این وجود، بررسی روند کلی داده‌ها نشان داد که با افزایش غلظت اولیه نفت خام، کارایی سیستم زیست‌پالایی شامل جلبک *Chlorella vulgaris* و پراکنده‌ساز کاهش می‌یابد. این کاهش کارایی در غلظت‌های بالاتر نفت احتمالاً ناشی از محدودیت ظرفیت متابولیکی جلبک برای تجزیه ترکیبات هیدروکربنی و همچنین اثرات بازدارنده یا سمی برخی ترکیبات نفتی بر فعالیت‌های زیستی میکروارگانیسم‌ها است. در میان تیمارهای مورد بررسی، بیشترین میزان حذف نفت و بهترین عملکرد سیستم در غلظت ۳۲/۵ ml/L مشاهده شد که بیانگر مناسب‌تر بودن غلظت‌های متوسط آلاینده برای انجام مؤثر فرآیند زیست‌پالایی است. از دیدگاه مکانیسم عملکرد، استفاده از پراکنده‌سازها در سطح لایه نفتی موجب کاهش کشش سطحی در مرز مشترک آب و نفت می‌شود. کاهش کشش سطحی سبب شکسته شدن لایه نفتی به قطرات بسیار ریز و تشکیل امولسیون نفت در آب می‌گردد. این پدیده باعث افزایش سطح تماس نفت با محیط آبی و در نتیجه افزایش دسترسی میکروارگانیسم‌ها به ترکیبات هیدروکربنی می‌شود. علاوه بر این، پراکنده‌سازها با جلوگیری از تجمع مجدد قطرات نفتی، پایداری امولسیون را افزایش داده و شرایط مناسب‌تری را برای مصرف ترکیبات نفتی به‌عنوان منبع کربن و انرژی توسط میکروارگانیسم‌ها فراهم می‌کنند. در نتیجه، این فرآیند می‌تواند موجب تسریع و بهبود کارایی زیست‌پالایی نفت در محیط‌های آبی شود.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-10-31]

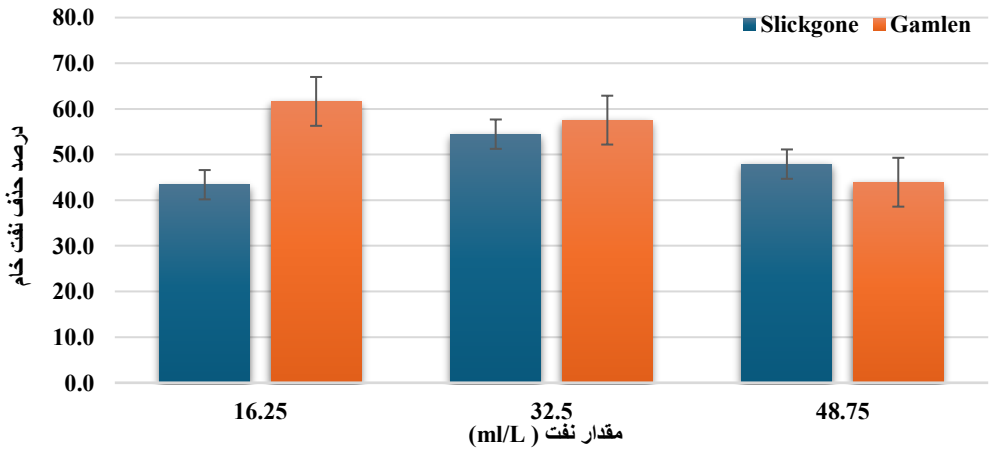
JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، صفحات: ۲۳-۳۹
https://jmb.ahvaz.iau.ir



شکل ۲. مقایسه زیست پالایی نفت خام توسط *کلرلا ولگاریس* در مجاورت دو پراکنده ساز اسلیک گان و گملن OD4000

نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت آلاینده بر فرآیند زیست‌پالایی در pH=5 (شکل ۳) نشان داد که نوع پراکنده‌ساز و غلظت نفت خام، تأثیر متقابلی بر راندمان حذف دارند. بر اساس یافته‌ها، بیشترین میزان حذف نفت در این مرحله مربوط به تیمار حاوی پراکنده‌ساز گملن در پایین‌ترین غلظت نفتی ۱۶/۲۵ (ml/L) به میزان ۶۱/۶ درصد بود. با این حال، با افزایش غلظت نفت خام، راندمان حذف در حضور پراکنده‌ساز گملن با شیبی ملایم کاهش یافت و در غلظت ۴۸/۷۵ (ml/L) به حداقل مقدار خود یعنی ۴۴/۱ درصد رسید.

در مقابل، پراکنده‌ساز اسلیک‌گان رفتار متفاوتی را نشان داد؛ به‌طوری‌که با افزایش اولیه غلظت نفت از ۱۶/۲۵ به ۳۲/۵ (ml/L) ، راندمان حذف از ۴۳/۴ درصد به ۵۴/۵ درصد افزایش یافت که نشان‌دهنده کارایی بهتر این پراکنده‌ساز در غلظت‌های متوسط آلاینده در شرایط اسیدی است. با این حال، در غلظت نهایی ۴۸/۷۵ (ml/L)، کارایی هر دو پراکنده‌ساز کاهش یافت که می‌تواند ناشی از اشباع ظرفیت زیستی جلبک یا اثرات سمی ناشی از تجمع هیدروکربن‌ها باشد. مقایسه کلی نتایج در این pH نشان می‌دهد که اگرچه گملن در غلظت‌های پایین برتری محسوسی دارد، اما اسلیک‌گان در غلظت‌های بالاتر ۴۸/۷۵ (ml/L) پایداری عملکرد بیشتری از خود نشان داده و راندمان حذف بالاتری را نسبت به گملن ثبت کرده است.

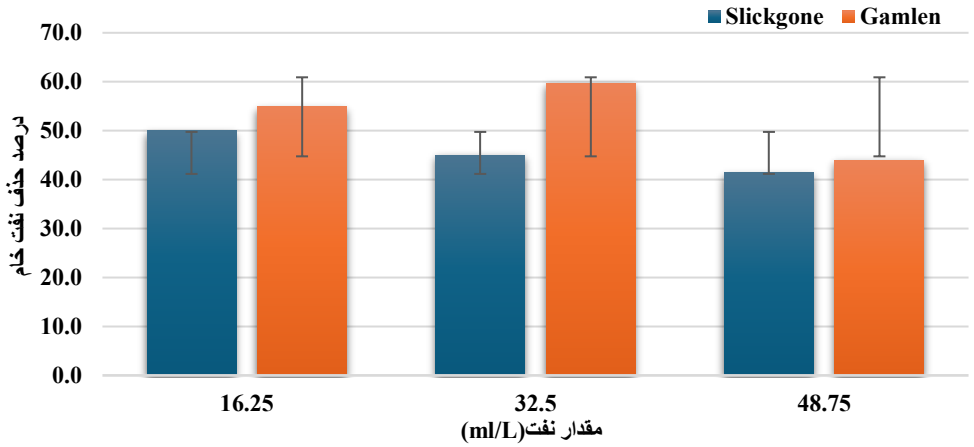


شکل ۳. مقایسه زیست پالایی نفت خام توسط کلرلا ولگاریس در مجاورت دو پراکنده ساز اسلیک گان و گملن OD4000 (pH=۵)

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-10-31]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، صفحات: ۲۳–۳۹
https://jmb.ahvaz.iau.ir

نتایج زیست‌پالایی نفت خام بهرگان در حضور جلبک *Chlorella vulgaris* و دو پراکنده‌ساز در pH =۹ در جدول ۴ ارائه شده است. بر اساس داده‌ها، عملکرد دو پراکنده‌ساز در این شرایط قلیایی متفاوت بود. در تیمار حاوی اسلیک‌گان، با افزایش غلظت نفت از ۱۶/۲۵ به ۴۸/۷۵ (ml/L)، راندمان حذف روندی کاهشی نشان داد. در مقابل، در تیمار حاوی گملن، راندمان حذف تا غلظت ۳۲/۵ (ml/L) افزایش یافت و سپس در غلظت ۴۸/۷۵ (ml/L) کاهش پیدا کرد. بیشترین راندمان حذف در pH=۹ مربوط به تیمار گملن در غلظت ۳۲/۵ (ml/L) و در حدود ۶۰ درصد بود. همچنین، در تمامی غلظت‌های مورد بررسی، گملن نسبت به اسلیک‌گان راندمان بالاتری در حذف هیدروکربن‌های نفتی نشان داد.



شکل ٤. مقایسه زیست پالایی نفت خام توسط (*Chlorella volgaris*) در مجاورت دو پراکنده ساز اسلیک گان و گملن OD4000 در pH=۹

مقایسه عملکرد دو پراکنده‌ساز اسلیک‌گان و گملن OD4000 در حذف نفت خام توسط *Chlorella vulgaris* در سه pH مختلف (۵، ۷ و ۹) نشان داد که هر دو پراکنده‌ساز تحت تأثیر شرایط pH و غلظت نفت قرار دارند، اما الگوی تغییرات راندمان در آنها متفاوت است (شکل‌های ۵ و ۶).

در حضور پراکنده‌ساز اسلیک‌گان، بیشترین درصد حذف نفت در در pH=۷ مشاهده شد، به‌طوری‌که در غلظت ۳۲/۵ (ml/L) ، راندمان حذف به حدود ۵۸ تا ۵۹ درصد رسید. در در pH=۵ مقدار حذف اندکی کمتر و در در pH=۹ کمترین میزان راندمان ثبت گردید. به‌طور کلی، در هر سه pH، با افزایش غلظت نفت از ۱۶/۲۵ به ۴۸/۷۵ (ml/L) ، درصد حذف کاهش یافت و شرایط نزدیک به خنثی بیشترین کارایی اسلیک‌گان را فراهم نمود.

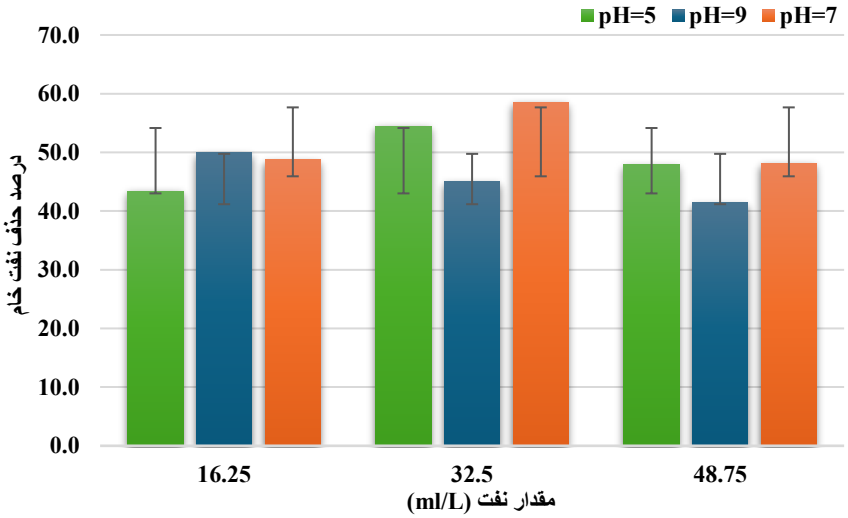
در مقابل، پراکنده‌ساز گملن OD4000 در گستره وسیع‌تری از pHها عملکرد بالایی از خود نشان داد. در غلظت پایین نفت ۱۶/۲۵ (ml/L) بیشترین حذف در در pH=۵ (حدود ۶۱–۶۲ درصد) ثبت شد، در حالی که در غلظت متوسط ۳۲/۵ (ml/L) ، راندمان حذف در در pH =۷ و در pH=۹ تقریباً مشابه و در حدود ۵۹–۶۰ درصد بود. در غلظت بالای نفت ۴۸/۷۵ (ml/L) نیز بهترین عملکرد مربوط به در pH=۷ بود. هرچند با افزایش غلظت نفت راندمان حذف در هر سه pH کاهش یافت، اما گملن در مقایسه با اسلیک‌گان پایداری بیشتری در برابر تغییر pH نشان داد.

به‌طور کلی، نتایج نشان دادند که غلظت متوسط نفت ۳۲/۵ (ml/L) در هر دو پراکنده‌ساز منجر به بیشترین راندمان حذف می‌شود و افزایش غلظت نفت به ۴۸/۷۵ (ml/L) کاهش معنی‌داری در حذف ایجاد می‌کند. از سوی دیگر، در pH=۷ به‌عنوان نقطه بهینه مشترک برای هر دو پراکنده‌ساز شناخته شد، هرچند گملن OD4000 در pHهای اسیدی و قلیایی نیز بازده قابل‌توجهی داشت. در مجموعه، می‌توان گفت گملن به دلیل

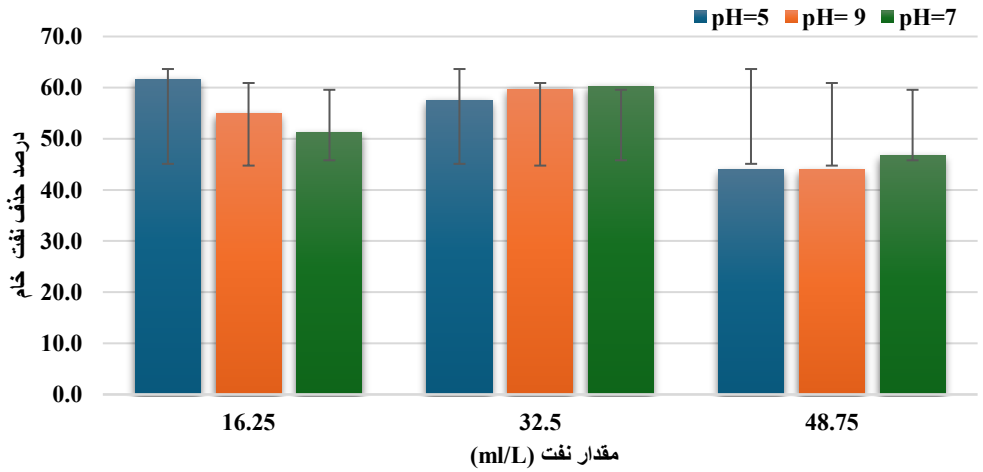
[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-10-31]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، صفحات: ۲۳-۳۹
https://jmb.ahvaz.iau.ir

پایداری عملکرد در شرایط گوناگون pH، گزینه مؤثرتری برای زیست‌پالایی نفت در محیط‌های با نوسانات pH به شمار می‌رود، در حالی که اسلیک‌گان بیشترین کارایی خود را در pH نزدیک به خنثی نشان می‌دهد.



شکل ۵. مقایسه زیست پالایی نفت خام توسط کلرلا ولگاریس در مجاورت پراکنده ساز اسلیک گان در pH های (۵-۷-۹)



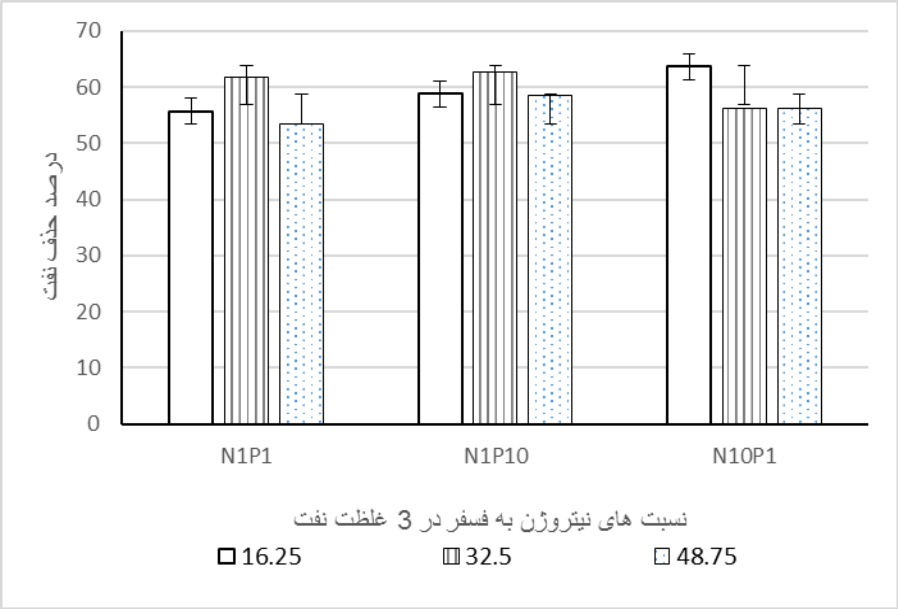
شکل ٦. مقایسه زیست پالایی نفت خام توسط کلرلا ولگاریس در مجاورت پراکنده ساز گملن OD4000 درpH های (۵-۷-۹)

نتایج مقایسه درصد حذف نفت در سه غلظت نفت با نسبت های مختلف نیتروژن و فسفر در شکل ۷ ارایه شد.در مقایسه بین سه غلظت مختلف نفت خام، بیشترین درصد حذف نفت توسط جلبک *کلرلا ولگاریس* در نسبت نیتروژن به فسفر (N:P) برابر با ۱:۱۰ مشاهده گردید، به‌طوری‌که درصد حذف نفت به‌ترتیب از کمترین تا بیشترین غلظت برابر با ۵۸/۸ درصد، ۶۲/۸ درصد و ۵۶/۶ درصد بود. این روند نشان می‌دهد که نسبت بهینه‌ی عناصر غذایی، به‌ویژه فسفر، نقش قابل‌توجهی در بهبود عملکرد زیستی جلبک در حذف ترکیبات نفتی دارد.در غلظت۲۵/۱۶ میلی لیتر، با افزایش نسبت فسفر به نیتروژن، میزان حذف نفت از ۵۵/۷ درصد به ۵۸/۸ درصد افزایش یافت و همچنین با افزایش نیتروژن نیز درصد حذف به ۶۳/۷ درصد رسید. این امر بیانگر آن است که هر دو عنصر نیتروژن و فسفر به‌عنوان عناصر کلیدی در متابولیسم جلبک، در فعال‌سازی مسیرهای آنزیمی مرتبط با تجزیه هیدروکربن‌ها مؤثرند. حضور کافی فسفر موجب تحریک سنتز نوکلئوتیدها و فسفولیپیدها می‌شود که در رشد سلولی و ترمیم غشای سلول نقش دارند، درحالی‌که نیتروژن کافی باعث افزایش سنتز پروتئین‌ها و آنزیم‌های دخیل در اکسیداسیون ترکیبات آلی می‌گردد.در غلظت ۳۲/۵ (ml/L)، با وجود افزایش نیتروژن اضافی، درصد حذف نفت به ۵۶/۳ درصد کاهش یافت. این کاهش می‌تواند ناشی از اثر بازدارنده‌ی غلظت بالای نیتروژن

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-10-31]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، صفحات: ۲۳-۳۹
https://jmb.ahvaz.iau.ir

باشد که منجر به برهم‌خوردن تعادل متابولیکی سلول و کاهش بیان آنزیم‌های تجزیه‌کننده هیدروکربن‌ها می‌شود. به بیان دیگر، نیتروژن بیش از حد ممکن است سبب انتقال متابولیسم جلبک از مسیرهای کاتابولیکی به مسیرهای رشد سریع سلولی گردد، که در نتیجه توان حذف نفت کاهش می‌یابد. در غلظت ۴۸/۷۵ (ml/L)، افزودن نیتروژن موجب افزایش میزان حذف از ۵۳/۴ درصد به ۵۶/۳ درصد گردید و افزودن فسفر سبب ارتقاء بیشتر حذف تا ۵۸/۶ درصد شد. این نتایج نشان می‌دهد که حضور فسفر نسبت به نیتروژن اثر مثبت قوی‌تری در کارایی حذف نفت دارد، احتمالاً به‌دلیل نقش آن در انرژی‌زایی (از طریق ATP) و در مسیرهای زیست‌تجزیه‌ای وابسته به فسفریلاسیون می باشد.در مجموع، نتایج حاکی از آن است که تنظیم بهینه‌ی نسبت عناصر نیتروژن و فسفر در محیط کشت جلبک *کلرلا ولگاریس*، می‌تواند به‌طور معناداری بر کارایی زیست‌تجزیه نفت خام تأثیر بگذارد. نسبت‌های متعادل‌تر به‌ویژه (N:P = 1:10) موجب تقویت رشد سلولی هم‌زمان با افزایش فعالیت آنزیم‌های نفت‌تجزیه‌کننده می‌شوند، در حالی که نسبت‌های بسیار بالای نیتروژن ممکن است اثر مهاری بر فرآیند تجزیه داشته باشند.



شکل ۷. مقایسه درصد حذف نفت توسط کلرلا ولگاریس با نسبت های مختلف نیتروژن و فسفر

نتایج تحلیل واریانس (جدول ۲) نشان می‌دهد که مدل ارزیابی‌شده با ضریب تبیین $R^2 = 0.812$ و ضریب تبیین تعدیل‌شده 0.724 از برازش مناسبی برخوردار بوده و قادر است بخش عمده‌ای از تغییرات راندمان حذف نفت خام را توضیح دهد. بررسی اثرات اصلی متغیرها بیانگر آن است که نوع پراکنده‌ساز $(F = 21.044, P < 0.01)$ و غلظت نفت $(F = 36.479, P < 0.01)$ در سطح اطمینان ۹۹ درصد، و متغیر pH $(P = 0.047)$ در سطح اطمینان ۹۵ درصد تأثیر معنی‌داری بر راندمان حذف دارند. افزون بر این، معنی‌دار شدن تمامی اثرات متقابل دوجانبه شامل pH× نوع پراکنده‌ساز $(P = 0.036)$، pH×غلظت نفت $(P = 0.048)$ و نوع پراکنده‌ساز × غلظت نفت $(P = 0.001)$، در کنار معنی‌داری اثر متقابل سه‌جانبه pH× نوع پراکنده‌ساز × غلظت نفت $(P = 0.002)$، نشان‌دهنده پیچیدگی و چندعاملی بودن این فرآیند است؛ به این معنا که تأثیر هر متغیر به شدت وابسته به سطوح سایر متغیرها بوده و برای دستیابی به بالاترین راندمان حذف، تنظیم و بهینه‌سازی همزمانِ هر سه عامل ضروری است.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-10-31]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، صفحات: ۲۳–۳۹
https://jmb.ahvaz.iau.ir

جدول ۲. نتایج تحلیل واریانس (ANOVA) اثرات عوامل مستقل بر راندمان حذف نفت خام

منبع تغییرات	درجه آزادی (df)	مجموع مجذورات (SS)	میانگین مجذورات (MS)	آماره F	سطح معنی‌داری (p-value)
pH	۲	۹۳/۳۸۸	۴۶/۶۹۴	۳/۳۲۱	*۰/۰۴۷
نوع پراکنده‌ساز (Dispersant)	۱	۲۹۵/۸۷۰	۲۹۵/۸۷۰	۲۱/۰۴۴	**۰/۰۰۱ >
غلظت نفت (Concentration)	۲	۱۰۲۵/۷۶۴	۵۱۲/۸۲۲	۳۶/۴۷۹	**۰/۰۰۱ >
pH × نوع پراکنده‌ساز	۲	۱۰۳/۰۱۱	۵۱/۵۰۶	۳/۶۶۳	*۰/۰۳۶
pH × غلظت نفت	۴	۱۴۹/۴۹۱	۳۷/۳۷۳	۲/۶۵۸	*۰/۰۴۸
نوع پراکنده‌ساز × غلظت نفت	۲	۲۲۶/۲۰۰۱	۱۱۳/۰۰۱	۸/۰۳۷	**۰/۰۰۱
pH × نوع پراکنده‌ساز × غلظت	۴	۲۹۷/۷۲۱	۷۴/۴۳۰	۵/۲۹۴	**۰/۰۰۲
خطا (Error)	۳۶	۵۰۶/۱۷۴	۱۴/۰۶	—	—
مجموع کل اصلاح شده	۵۳	۲۶۹۷/۳۹۳	—	—	—

R^2= ۰/۸۱۲ (ضریب تبین)، R^2 = ۰/۷۲٤ (ضریب تبین تعدیل شده)، * معنی‌دار در سطح ۵ درصد ($P\leq 0.05$). ** معنی‌دار در سطح ۱ درصد ($P\leq 0.01$).

بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش، تجزیه زیستی نفت خام بهرگان توسط *Chlorella vulgaris* در حضور دو پراکنده‌ساز شیمیایی اسلیک‌گان و گملن، تحت شرایط مختلف pH و نسبت‌های متفاوت عناصر مغذی بررسی شد. نتایج نشان داد که در pH خنثی، بین عملکرد دو پراکنده‌ساز از نظر حذف نفت اختلاف آماری معناداری وجود نداشت. این یافته نشان می‌دهد که هر دو پراکنده‌ساز در این شرایط توان مشابهی در افزایش دسترس‌پذیری زیستی نفت برای جلبک دارند. به نظر می‌رسد این اثر عمدتاً ناشی از کاهش کشش سطحی، تشکیل قطرات ریز نفت و افزایش سطح تماس بین آلاینده و فاز آبی باشد؛ فرایندی که دسترسی جلبک به هیدروکربن‌ها را تسهیل می‌کند. این نتیجه با گزارش Ghazaryan و همکاران (۲۰۲۳) هم‌خوان است که نشان دادند پراکنده‌سازها می‌توانند سرعت تجزیه زیستی هیدروکربن‌ها را افزایش دهند.

در مقابل، افزایش غلظت اولیه نفت خام موجب کاهش کارایی سامانه شد. این کاهش احتمالاً به اثرات مهاری هیدروکربن‌ها بر فعالیت متابولیکی *C. vulgaris* مربوط است. غلظت‌های بالاتر نفت می‌توانند با ایجاد تنش اکسیداتیو، آسیب به غشاهای سلولی و اختلال در فعالیت‌های آنزیمی و فتوسنتزی، توان زیستی جلبک را محدود کنند. مطالعات پیشین نیز نشان داده‌اند که افزایش غلظت نفت معمولاً با کاهش رشد و کارایی تجزیه زیستی همراه است (Sharma *et al.*, 2015; Parab *et al.*, 2008). بنابراین، در pH خنثی به نظر می‌رسد شدت آلودگی عامل تعیین‌کننده‌تری نسبت به نوع پراکنده‌ساز باشد.

با تغییر pH، رفتار دو پراکنده‌ساز از یکدیگر متمایز شد. در pH برابر با ۵، گملن در تمام سطوح غلظت نفت عملکرد بهتری نسبت به اسلیک‌گان نشان داد. این برتری احتمالاً به پایداری بیشتر امولسیون نفت در آب و حفظ کارایی پراکنده‌سازی در شرایط اسیدی مربوط است. در چنین شرایطی، افزایش سطح تماس بین نفت و جلبک می‌تواند دسترسی زیستی هیدروکربن‌ها را بهبود دهد و در نتیجه راندمان تجزیه زیستی را افزایش دهد. در مقابل، در pH برابر با ۹، تغییر بار سطحی ترکیبات فعال در پراکنده‌سازها و نیز سطح سلول‌های جلبک می‌تواند بر پایداری امولسیون و نوع برهم‌کنش‌های بین‌مولکولی اثر بگذارد (Mohan *et al.*, 2023). این تغییرات احتمالاً علت تفاوت عملکرد تیمارها در محیط

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-10-31]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، صفحات: ۲۳-۳۹
https://jmb.ahvaz.iau.ir

قلیایی است. در مجموع، نتایج این بخش نشان می‌دهد که pH یکی از عوامل کلیدی در تعیین کارایی پراکنده‌ساز و در نهایت راندمان بیورمدییشن است.

علاوه بر pH، نسبت عناصر مغذی نیز نقش مهمی در کارایی این فرایند داشت. در این پژوهش، نسبت N:P برابر با ۱:۱۰ بیشترین درصد حذف نفت را ایجاد کرد. این نتیجه نشان می‌دهد که فراهم بودن فسفر کافی، در کنار مقدار مناسب نیتروژن، می‌تواند شرایط مطلوب‌تری برای فعالیت متابولیکی جلبک فراهم کند. فسفر در سنتز نوکلئوتیدها، فسفولیپیدها و انتقال انرژی نقش اساسی دارد، در حالی که نیتروژن برای ساخت پروتئین‌ها و آنزیم‌های دخیل در تجزیه هیدروکربن‌ها ضروری است. در مقابل، افزایش بیش از حد نیتروژن ممکن است تعادل متابولیکی سلول را برهم زند و بازده فرایند را کاهش دهد. این برداشت با نتایج گزارش‌شده توسط Sathishkumar و همکاران (۲۰۲۲) نیز هم‌سو است.

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که نفت خام می‌تواند اثرات مهاری قابل‌توجهی بر عملکرد فیزیولوژیک ریزجلبک‌ها، به‌ویژه رشد و فتوسنتز، داشته باشد. برای مثال، گزارش شده است که مواجهه با نفت می‌تواند در مدت کوتاه موجب کاهش معنی‌دار فعالیت فتوسنتزی شود، هرچند این اثر لزوماً با کاهش فوری بقای سلولی همراه نیست (Carrera Martínez *et al.*, 2010). همچنین شدت این اثر به غلظت نفت وابسته است؛ به‌طوری که غلظت‌های پایین‌تر در برخی موارد اثر مهاری کمتری دارند، اما غلظت‌های بالاتر معمولاً باعث کاهش رشد و فعالیت فتوسنتزی می‌شوند (Parab *et al.*, 2008). یافته‌های پژوهش حاضر نیز این الگو را تأیید می‌کند و نشان می‌دهد که کاهش راندمان تجزیه زیستی در غلظت‌های بالاتر نفت، به احتمال زیاد ناشی از اختلال در فرایندهای متابولیکی و فتوسنتزی *C. vulgaris* است.

با وجود این، نتایج این مطالعه نشان داد که حضور پراکنده‌سازها می‌تواند تا حدی این اثرات منفی را تعدیل کند. هر دو پراکنده‌ساز با افزایش پراکنش نفت و بهبود دسترس‌پذیری زیستی هیدروکربن‌ها، شرایط مناسب‌تری برای فعالیت جلبک فراهم کردند. در عین حال، تفاوت عملکرد آن‌ها در pHهای مختلف نشان داد که کارایی پراکنده‌سازها وابسته به شرایط محیطی است و نمی‌توان برای همه شرایط، یک ترکیب را به‌عنوان گزینه برتر معرفی کرد. این نکته از نظر طراحی سامانه‌های زیست‌پالایی اهمیت دارد، زیرا انتخاب پراکنده‌ساز باید متناسب با شرایط شیمیایی محیط انجام شود.

در کنار نقش پراکنده‌سازها، نتایج این پژوهش بار دیگر توان بالقوه *Chlorella vulgaris* را در تجزیه آلاینده‌های نفتی نشان داد. مطالعات آزمایشگاهی متعددی گزارش کرده‌اند که این جلبک می‌تواند بخش قابل‌توجهی از هیدروکربن‌های نفتی را در شرایط کنترل‌شده حذف کند و در عین حال فعالیت زیستی خود را حفظ نماید (El Sheekh *et al.*, 2013; Chinwe, 2024, Amber *etal.*, 2014). برخی پژوهش‌ها نیز کاهش pH، افزایش جذب نوری و افت غلظت نفت باقی‌مانده را به‌عنوان نشانه‌هایی از فعالیت متابولیکی این گونه در حضور نفت معرفی کرده‌اند. یافته‌های پژوهش حاضر با این گزارش‌ها هم‌خوان است و نشان می‌دهد که *C. vulgaris* حتی در حضور نفت خام و پراکنده‌سازها نیز توان مشارکت مؤثر در فرایند تجزیه زیستی را دارد، هرچند میزان این کارایی به شرایط محیطی وابسته است.

به‌طور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که کارایی تجزیه زیستی نفت خام توسط *Chlorella vulgaris* حاصل برهم‌کنش چند عامل اصلی، شامل pH، غلظت اولیه نفت، نوع پراکنده‌ساز و نسبت عناصر مغذی است. در pH خنثی، تفاوت معناداری بین دو پراکنده‌ساز مشاهده نشد، اما در شرایط اسیدی گملن عملکرد بهتری داشت. همچنین افزایش غلظت نفت موجب کاهش راندمان حذف شد، در حالی که نسبت N:P برابر با ۱:۱۰ مناسب‌ترین شرایط تغذیه‌ای را برای فرایند فراهم کرد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که بهینه‌سازی هم‌زمان شرایط محیطی و تغذیه‌ای می‌تواند نقش تعیین‌کننده‌ای در افزایش کارایی سامانه‌های زیست‌پالایی مبتنی بر ریزجلبک‌ها داشته باشد.

نتایج این پژوهش نشان داد که *Chlorella vulgaris* توانایی مؤثری در تجزیه نفت خام بهرگان دارد و استفاده از پراکنده‌سازها می‌تواند این فرایند را بهبود دهد. در pH خنثی، عملکرد دو پراکنده‌ساز تفاوت معناداری نداشت، اما در محیط اسیدی Gamlen کارایی بالاتری نشان داد. همچنین نسبت N:P برابر ۱:۱۰ شرایط بهینه‌تری برای افزایش راندمان حذف نفت فراهم کرد.این یافته‌ها نشان می‌دهد که بهینه‌سازی هم‌زمان pH، نوع پراکنده‌ساز و نسبت عناصر مغذی می‌تواند نقش تعیین‌کننده‌ای در افزایش کارایی زیست‌پالایی داشته باشد.با این حال، این مطالعه در

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-10-31]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، صفحات: ۲۳-۳۹
https://jmb.ahvaz.iau.ir

مقیاس آزمایشگاهی انجام شده و اثرات بلندمدت پراکنده‌سازها بر سایر اجزای اکوسیستم آبی بررسی نشده است. پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آینده: ۱)سمیت زیست‌محیطی پراکنده‌سازها در شرایط واقعی ارزیابی شود؛ ۲) از کنسرسیوم‌های جلبکی-باکتریایی استفاده شود؛ ۳)پراکنده‌سازهای زیست‌سازگار متناسب با شرایط خلیج فارس بررسی شوند؛ ۴) کارایی سیستم در مقیاس نیمه‌صنعتی آزمایش گردد.

References

۱. **امتیازجو، م. سلیمی، ل. زینلی، م. شهابی، ب. قاسم پور ملکی، م. ۱۳۹٤**. ارتباط بین در معرض گذاری آزمایشگاهی به نفت خام و پاسخ های آنتی اکسیدانی بارناکل های *Tetraclita rufotincta*. مجله علوم و تکنولوژی محیط زیست، دوره هفدهم شماره یک،بهار ۱۳۹۴

۲. **شهابی، ب.، ساداتی پور، س.م.ت.، حاتمی، ا. ۱۳۸۸**. بررسی و اندازه گیری کل هیدروکربهای نفتی (TPH) در آب و رسوب خلیج فارس در محدوده بهرگان. پژوهش های علوم و فنون دریایی، دوره۴ ، شماره۳، صفحه ۴۵– ۵۸.

۳. **شمسی زاده، ع. ۱۳۹۱**. ارزیابی مقایسه ای فلزات سنگین نیکل، وانادیوم و سرب در میگو *litopaeneus vanammei* در مجاورت نفت و پراکنده سازهای نفتی، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال. دانشکده علوم و فنون دریایی

٤. **غفاری،ر. سلطانی،ن. مطاهری اسدی، م. ۱۳۹۳**. پتانسیل کاهش آلودگی نفت خام توسط جلبک کلرلا ولگاریس و پاسخ های فیزیولوژیک ناشی از آن.مجله بوم شناسی آبزیان،دوره۴، شماره۲، صفحه ۱۲-۱۸.

5. **Amaral E A., Bertoldo L., Bender C, Rizzetti T M, de Cassia R., de Souza S.** Removal of organic contaminants in water bodies or wastewater by microalgae of the genus Chlorella: A review. (2023). *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering, 8*, 100476. https://doi.org/10.1016/j.cscee.2023.100476
6. **Amber L. Garr ,Susan Laramore ,.William Krebs. 2014.** Toxic Effects of Oil and Dispersant on Marine Microalgae. Bull Environ Contam Toxicol , 93:654–659
7. **Bordbar, L., Emtyazjoo, M., Farkhani, D. 2008.** Comparison and influence of two newly produced Iranian oil dispersants (Pars1 &Pars2) with the Gamlen OD4000 on rainbow trout. J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng. 2008 Dec;43(14):1598-601.
8. **Baglieri, A., Sidella, S., Barone, V., Fragalà, F., Silkina, A., Nègre, M., & Gennari, M., 2016.** Cultivating Chlorella vulgaris and Scenedesmus quadricauda microalgae to degrade inorganic compounds and pesticides in water. Environmental Science and Pollution Research, 1-10.
9. **Botero Ñañez K., Daniela K., Ramirez R., Cordeiro de Oliveira O M., Reyes C Y ., Thiago I., Moreira A.** Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from produced water using the microalgae *Chlorella vulgaris* cultivated in mixotrophic and heterotrophic conditions. *Chemosphere*, 356, 141931). (2024). https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.141931
10. **Carrera-Martínez, D., Mateos-Sanz, A., López-Rodas, V., Costas, E. (2010)** Microalgae response to petroleum spill: An experimental model analyzing physiological and genetic response of *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae) to oil samples from the tanker Prestige. Aquatic Toxicology 97, 151–159
11. **Chinwe A.J. 2024.** Phycoremediation Potentials of Chlorella vulgaris in Degradation of Crude Oil Spill, Glob Acad J Agri Biosci; Vol-6, Iss- 6 pp- 226-231.**https://doi.org/10.36348/gajab.2024.v06i06.006**
12. **Doe J, Khan N, Al-Harbi F, Patel R. 2024.** Evaluation of the phytoremediation potential of free-floating aquatic plants for degradation of oil pollution. Sustainability (MDPI). 16(21):9288. **Available from: https://www.mdpi.com/2071-1050/16/21/9288**
13. **El-Sheekh, M.M., Hamouda, R.A., Nizam, A.A. 2013.** Biodegradation of crude oil by *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella vulgaris* growing under heterotrophic conditions. International Biodeterioration & Biodegradation. 82: 67-72.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-10-31]

14. **Flayyih, A. H., & Al Magdamy, B. A. 2025.** Phytoremediation of petroleum hydrocarbon by micro green algae: A review. Journal of Biotechnology Research Center, 18(2), 134–144. **https://doi.org/10.24126/jobrc.2024.18.2.805**
15. **Ghazaryan, L., Bagramyan, K., & Petrosyan, V. 2023.** Surfactant-enhanced bioremediation of crude oil using microalgae: Mechanistic insights. Science of the Total Environment, 869, 162788. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162788
16. **Hamouda, R. A., Alhumairi, A. M., & Saddiq, A. A. 2023.** Simultaneous bioremediation of petroleum hydrocarbons and production of biofuels by the micro-green alga, cyanobacteria, and its consortium. Heliyon, 9(6), e16656. **https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16656**
17. **Hunt, L.J., Duca, D., Dan, T., Knopper, L.D.,** Petroleum hydrocarbon (PHC) uptake in plants: A literature review, *Environmental Pollution* (2018), doi: https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.11.012.
18. **khtar S, Andersen MS, Liu Y, Gomes J**. Phytoremediation of contaminated water using aquatic plants: recent advances, mechanisms, and challenges. Sci Total Environ. 2023; 880:163473. Available from: **https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2468584423000119**
19. **Mohan, S., Kavitha, S., & Selvam, A. 2023.** Influence of pH and dispersant type on microalgal degradation of hydrocarbons. Processes, 11(2), 442. https://doi.org/10.3390/pr11020442
20. **Olukunle, O. F. (2013).** Characterization of indigenous microorganisms associated with crude oil-polluted soil and water using traditional techniques. *Microbiology Journal, 3*(1), 1-11.
21. **Onuorah, S., Okafor, G., & Nwankwo, J. (2019).** Bioremediation of Crude and Refined Oil-Polluted Fresh Water Using Chlorella vulgaris Isolated from a Pond. *Universal Journal of Public Health, 8*(1), 23-34, 2020. doi: 10.13189/ujph.2020.080103
22. **Parab, S.R., Pandit, R.A., Kadam, A.N., Indap, M.M. (2008)** Effect of Bombay high crude oil and its water- soluble fraction on growth and metabolism of diatom *Thalassiosira* sp. Indian Journal of Marine Sciences. 37(3), 251-155.
23. **Pisal, A. .2011.** Determination of Oil and Grease in Water with a Mid-Infrared Spectrometer. PerkinElmer, Inc. Shelton, CT 06484 USA. www.perkinelmer.com
24. **Patel R. 2019.** Phytoremediation Using Aquatic Plants. In: Phytoremediation: Management of Environmental Contaminants. Springer;. p. 33-60. Available from https://www.researchgate.net/publication/340047038_Phytoremediation_Using_Aquatic_Plants
25. **Radice R.P., , De Fabrizio V, Donadoni A, Scopa A, and Martelli G. 2023**. Crude Oil Bioremediation: From Bacteria to Microalgae. Bacteria to Microalgae. Processes ,11, 442. https://doi.org/10.3390/pr11020442
26. **Sharma, S., Kansal, A., & Tyagi, V. 2015.** Effect of crude oil concentration on microalgal bioremediation efficiency. Environmental Science and Pollution Research, 22(12), 9502–9513. https://doi.org/10.1007/s11356-015-4310-7
27. **Singh R, Kumar P, Verma S. 2019.** Potential of Lemna minor for removal of petroleum hydrocarbons from contaminated water. Chemosphere. 237:124451. Available from: **https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653519302413**
28. **Sheikh Abdullah S R., Al-Baldawi AI., Almansoory AF., Purwanti I F, Al-Sbani Siti Shilatul N H., Sharuddin N .2020**. Plant-assisted remediation of hydrocarbons in water and soil:Application, mechanisms, challenges and opportunities. Chemosphere 247 , 125932

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-10-31]

29. **Smith A, Lee B. 2022.** Phytoremediation of pollutants from wastewater: a concise review. Environ Sci Pollut Res. 29(21):31765-31782. Available from: **https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9102307**/
30. **Sathishkumar, P., Doble, M., & Chatterjee, S. 2022.** Role of nutrient optimization in microalgal bioremediation of petroleum hydrocarbons. Microorganisms, 10(5), 905. https://doi.org/10.3390/microorganisms10050905
31. **Song Z, Liu M, , Bao B, Guo J., Tao H , Zhu B, and Chen Q.2022.** Effects of Chlorella vulgaris Enhancement on Endogenous Microbial Degradation of Marine Oil Spills and Community Diversity. Microorganisms **2022**, 10, 905.https://doi.org/10.3390/microorganisms10050905
32. **Ugboma, C. J., Nrior, R. R., & Igbudu, M. E. 2023.** Bioremediation potential of algae (*Chlorella vulgaris*) in crude oil contaminated sediment. South Asian Journal of Research in Microbiology, 15(3), 30–46. **https://doi.org/10.9734/sajrm/2023/v15i3289**
33. **Vaičiulytė, S., Padovani, G., Kostkevičienė, J., Carlozzi, P. 2014.** Batch Growth of Chlorella Vulgaris CCALA 896 versus Semi-Continuous Regimen for Enhancing Oil-Rich Biomass Productivity. Energies, Vol. 7, 3840-3857**.**
34. **Xaaldi Kalhor, A., Mohammadi Nassab, A.D., Abedi, E., Bahrami, A., Movafeghi, A., 2016.** Biodiesel production in crude oil contaminated environment using Chlorella vulgaris.Bioresour. Technol. 222, 190–194. http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.09.
35. **Zhao, S., Liu, M., Bao, B., Guo, J., Tao, H., Zhu, B., & Chen, Q. 2022.** Effects of Chlorella vulgaris enhancement on endogenous microbial degradation of marine oil spills and community diversity. Microorganisms, 10(5), 905. https://doi.org/10.3390/microorganisms10050905

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-10-31]