

## مقاله علمی - پژوهشی:

## تصفیه فاضلاب صنایع لبنی با استفاده از ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (*Spirulina platensis*)

هانیه السادات میرامینی\*، سید عباس حسینی<sup>۱</sup>، رسول قربانی<sup>۱</sup>، فرزانه نوری<sup>۲</sup>، حسن رضایی<sup>۳</sup>

\*Miramini\_h@yahoo.com

۱- گروه تولید و بهره برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۲- پژوهشکده آرتمیا و آبزی پروری ارومیه، گروه بیولوژی و تکثیر و پرورش، دانشکده شیلات، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۳- گروه محیط زیست، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۹

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۹

### چکیده

در این مطالعه، توانایی ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (*Spirulina platensis*) در تصفیه فاضلاب لبنی و حذف مواد مغذی همراه با تولید بیومس مورد بررسی قرار گرفت. بدین ترتیب، دو غلظت از ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (۰/۱ و ۰/۰۵ گرم بر لیتر) در سه رقت (۲۵، ۵۰، ۷۵ درصد) پساب لبنی کشت داده شد و راندمان حذف مواد مغذی و بیومس تولیدی با شش تیمار در سه تکرار مورد مطالعه قرار گرفت. مقادیر مواد مغذی و بیومس به صورت یک روز در میان اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که هر دو فاکتور غلظت‌های متفاوت ریزجلبک و رقت‌های مختلف فاضلاب نقش موثری در جذب مواد مغذی و تولید بیومس ریزجلبک داشته‌اند. بالاترین درصد حذف نیترات، فسفات، آمونیاک (۹۹/۸۵، ۸۲/۶۰، ۹۹/۸۳ درصد) و حداکثر میزان بیومس (۱/۶۹۰±۰/۰۱ گرم بر لیتر) در رقت ۲۵ درصد و غلظت ۰/۱ گرم بر لیتر ریز جلبک به دست آمد. در این تحقیق، همراه با کاهش درصد رقیق‌سازی فاضلاب صنایع لبنی و افزایش میزان مواد مغذی در دسترس ریزجلبک و نیز با افزایش غلظت ابتدایی ریزجلبک تزریقی در فاضلاب، مقادیر بیش‌تری از مواد مغذی حذف شد و میزان نیترات و آمونیاک تقریباً به حذف ۱۰۰ درصدی رسید و مقادیر بیومس افزایش یافت. در نتیجه، با توجه به نتایج حاصل، ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس عملکرد بالایی در حذف مواد مغذی (نیترات، فسفات، آمونیاک) از فاضلاب صنایع لبنی دارد و می‌تواند جهت تصفیه فاضلاب صنایع لبنی مورد توجه قرار گیرد.

**لغات کلیدی:** فاضلاب لبنی، تصفیه، اسپیرولینا پلاتنسیس، مواد مغذی

\*نویسنده مسئول

## مقدمه

فاضلاب اصطلاحی عمومی است که به جهت نشان دادن آب با کیفیت پایین و حاوی مقادیر بالاتری از آلاینده‌ها و میکروب‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد که در صورت تخلیه به آبهای مجاور، می‌تواند منجر به مشکلات جدی در زمینه محیط زیست و سلامت انسان گردد (Rawat *et al.*, 2010). در واقع، یکی از الزامات اصلی در تصفیه فاضلاب‌ها نیاز به حذف مواد مغذی به‌خصوص نیتروژن و فسفر می‌باشد که در صورت تخلیه در رودخانه‌ها و دریاچه‌ها می‌توانند سبب نابودی اکوسیستم‌ها و یوتروفیکاسیون منابع آبی گردند (Ruiz-Marín *et al.*, 2010) که این مواد مغذی می‌توانند به عنوان یک محیط کشت غنی برای کشت ریز جلبک‌ها مورد استفاده قرار گیرند (باقری و معصومی زاده، ۱۳۹۵). لذا، فرموله نمودن بهینه محیط‌های کشت از نظر کارایی و اقتصادی بسیار مهم است (جریان و همکاران، ۱۳۹۸). فاضلاب‌های لبنی یکی از این موارد است که افزایش جمعیت و گرایش مردم به استفاده از محصولات لبنی و نیز توسعه صنایع لبنی در دهه‌های اخیر، موجب افزایش سریع تولید این نوع فاضلاب در اکثر کشورهای جهان گردیده است (شکوهی، ۱۳۹۰). در واقع، در فاضلاب‌های لبنی، نیتروژن به طور عمده از پروتئین شیر تولید می‌شود و در فرم‌های نیتروژنی (پروتئین، اوره و نوکلئیک اسید) یا برای مثال، در یون‌های آمونیوم، نیتريت و نترات حضور دارد. فسفر به طور عمده در اشکال غیر آلی برای مثال  $PO_3^{4-}$  و  $P_2O_4^{7-}$  و آلی یافت می‌شوند (Demirel *et al.*, 2005). جهت تصفیه فاضلاب لبنی، روش‌های فیزیکی و شیمیایی زیادی وجود دارد که اغلب بسیار پرهزینه بوده (Wuang *et al.*, 2016) و همراه با تولید لجن می‌باشند (Yuan *et al.*, 2011). هم‌چنین به دلیل تخمیر لاکتوز به لاکتیک اسید، فاضلاب لبنی تازه که بسیار قلیایی است، به اسید تبدیل می‌شود که با توجه به این ویژگی‌ها، روش‌های تصفیه شیمیایی ممکن است مفید نباشد (Kotteswari *et al.*, 2012) به همین دلیل ریز جلبک‌ها می‌توانند به عنوان یک روش جایگزین در کنار روش‌های معمول تصفیه، جهت حذف مواد مغذی از فاضلاب پیشنهاد

گردند (Mallick, 2002). اسپیرولینا پلاتنسیس (*Spirulina platensis*) یکی از این جلبک‌هاست که یک جلبک سبز-آبی، رشته‌ای و چند سلولی است و به سبب کارایی بالای فتوسنتزی، سرعت رشد سریع و سازگاری عالی با محیط (Shi *et al.*, 2016) جهت تصفیه انواع مختلفی از فاضلاب‌ها از جمله فاضلاب لبنی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Vonshak, 1997). در واقع، با توجه به مساله کم‌آبی موجود در ایران و جهان، به مقادیر زیادی آب و مواد مغذی برای کشت ریز جلبک‌ها نیاز می‌باشد که یک تنگنای عمده در این زمینه به حساب می‌آید و توانایی ریز جلبک‌ها برای رشد در آبهای غیر قابل‌شرب مانند فاضلاب‌ها، راه‌حلی مناسب برای حل این مشکل می‌باشد (Yang *et al.*, 2011). ریز جلبک‌ها قادر به برداشت و حذف مواد مغذی به‌خصوص نیتروژن، فسفر و مواد آلی از فاضلاب‌ها هستند و نکته قابل‌توجه در تصفیه فاضلاب‌ها با استفاده از ریز جلبک‌ها، همزیستی و همکاری آنها با باکتری‌ها در فرآیند تصفیه است. در این ارتباط، ریزجلبک‌ها گاز دی‌اکسید کربن تولیدی را در نتیجه فعالیت‌های متابولیسمی باکتری‌ها جذب می‌کنند و در فرآیند فتوسنتز مورد استفاده قرار می‌دهند. از سوی دیگر، اکسیژن تولیدی ریز جلبک‌ها، در فرآیندهای مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد (Munoz *et al.*, 2006). استفاده از میکرو یا ماکرو جلبک جهت حذف آلاینده‌ها و مواد مغذی از فاضلاب‌ها "تصفیه زیستی آلاینده‌ها"<sup>۱</sup> نامیده می‌شود که در مقیاس وسیعی در سیستم‌های تصفیه فاضلاب مورد استفاده قرار می‌گیرد. مطالعات زیادی در مورد تصفیه فاضلاب‌های شهری، صنعتی و کشاورزی از طریق سیستم‌های کشت ریز جلبک‌ها انجام شده است (Zhu *et al.*, 2013) از مطالعات انجام‌شده بر روی قابلیت حذف ازت و فسفر فاضلاب توسط ریز جلبک‌ها می‌توان به مطالعات چنگانی و همکاران (۱۳۹۰) بر اسپیرولینا پلاتنسیس جهت تصفیه فاضلاب اشاره نمود. آنها در این مطالعه نشان دادند که این ریز جلبک در فاضلاب‌های غنی از مواد غذایی رشد می‌کند و می‌تواند به عنوان

<sup>1</sup> Phycoremediation

جهت استریل فضای داخلی آزمایشگاه و اتاق کشت، روزانه ۱۵ دقیقه لامپ‌های فرابنفش (UV) روشن شد. در واقع، این اشعه با نفوذ در دیواره سلولی و تحت تاثیر قرار دادن اسیدهای نوکلئیک و سایر مواد سلولی حیاتی میکروارگانیسم‌ها، موجبات صدمه و نابودی این میکروارگانیسم‌ها را فراهم می‌کند. قبل از شروع کشت، ارلن مایرهای مورد استفاده بعد از شست و شو، به مدت یک ساعت در دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک و سپس کلیه ظروف حاوی محیط کشت، آلات هوادهی و پیپت پاستورهای مورد استفاده برای هوادهی، داخل اتوکلاو<sup>۱</sup> مدل پکولب ساخت ایران به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استریل شدند. محیط کشت، پس از خارج شدن از اتوکلاو در اتاق کشت قرار داده شد تا به دمای اتاق برسد و در نهایت برای معرفی جلبک آماده باشد. کشت جلبک‌ها در اتاق کشت با دمای ۲±۳۰ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۴۶۷۰±۳۵۰ لوکس و دوره نوری (تاریکی:روشنایی) (۱۲:۱۲) طی ۱۴ روز انجام گرفت (حسین زاده و همکاران، ۱۳۹۳). در این تحقیق، از محیط کشت زاروک (محیط کشت اختصاصی ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس)، برای کشت اولیه جلبک استفاده شد.

#### تهیه نمونه فاضلاب

نمونه فاضلاب با ظروف پلاستیکی (پلی‌اتیلنی) جهت حفظ کیفیت آن و حمل و نقل آسان‌تر از کارخانه لبنیات پگاه در زمستان جمع‌آوری شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و به آزمایشگاه منتقل گردید (Gao *et al.*, 2014). ابتدا با بافت توری جهت حذف ذرات بزرگ‌تر فیلتر و سپس در اتوکلاو استریل گشت تا از فقدان بار میکروبی فاضلاب اطمینان حاصل شود. در مرحله بعد، فاضلاب به‌وسیله آب مقطر در رقت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵ درصد رقیق‌سازی و ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در آن کشت داده شد تا مقادیر نیتروژن و فسفات و آمونیاک موجود در آن مورد ارزیابی قرار گیرد.

جایگزینی مناسب جهت تصفیه ثانویه مورد استفاده قرار گیرد. Ahmed (۲۰۱۴) در مطالعه‌ای با کشت اسپیرولینا پلاتنسیس در فاضلاب لبنی میزان نیترات تا ۸۰٪ و فسفات را تا ۷۲٪ کاهش دادند. Hadiyanto و همکاران (۲۰۱۳) درصد حذف TN و TP فاضلاب روغن‌زیتون را با استفاده از ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس به ترتیب برابر با ۹۶/۵۰٪ و ۸۵/۹۲٪ گزارش کردند. احمدپور و همکاران (۱۳۹۴) به کشت ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در پساب شهری طی مدت ۸ روز پرداختند و نتایج آنها بیانگر این بود که میزان فسفات تا ۴۲/۷۹٪ کاهش یافته است. Daneshvar و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی دو چرخه میکسوتروفیک و یک چرخه هتروتروفیک کشت ریز جلبک‌های *Scenedesmus quadricauda* (آب شیرین) و *Tetraselmis suecica* (آب دریایی) در فاضلاب لبنی پرداختند و بیان کردند *S. quadricauda* بعد از دو چرخه کشت ۹۲/۱۵٪ از نیتروژن کل را کاهش داده است. همچنین در سال‌های اخیر، بیومس حاصل از تصفیه فاضلاب ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس جهت کاربردهای متنوعی از جمله تولید سوخت‌های زیستی، کودهای زیستی و افزودنی‌های خوراکی در پرورش تجاری بسیاری از موجودات آبی، اعم از آب شیرین و دریایی به‌کاربرده شده است (Mata *et al.*, 2010). هدف از این مطالعه بررسی توانایی ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس با دو غلظت متفاوت (۰/۵ و ۰/۱ گرم بر لیتر) در تصفیه زیستی فاضلاب لبنی و حذف مواد مغذی همراه با تولید بیومس می‌باشد. لزوم انجام تحقیق حاضر نیز تصفیه زیستی فاضلاب با هزینه کم‌تر و به صورت اقتصادی و تولید انبوه ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس بدون نیاز به آب و زمین فراوان است.

#### مواد و روش کار

##### کشت ریز جلبک

استوک جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس از کلینیک تخصصی ریز جلبک کاسپین ساری تهیه و به آزمایشگاه فایکولب دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل و سایر مراحل کشت جلبک در این آزمایشگاه انجام شد.

<sup>1</sup> Autoclave Model Packolab

### تیمارهای آزمایشی

در این آزمایش  $F_1$  یا فاضلاب با غلظت اولیه (۰/۰۵) گرم بر لیتر) ریز جلبک، در رقت‌های ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد و نیز  $F_2$  یا فاضلاب با غلظت ثانویه (۰/۱) گرم بر لیتر) ریز جلبک، در رقت‌های ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد به ترتیب به نسبت ۳:۱ با آب مقطر استریل شده (یک نسبت از فاضلاب و ۳ نسبت از آب مقطر استریل شده)، ۱:۱ (۱) نسبت از فاضلاب و ۱ نسبت از آب مقطر استریل شده) و ۱:۳ (۳) نسبت از فاضلاب و ۱ نسبت از آب مقطر استریل شده) رقیق گشت.

جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس به صورت یک روز در میان با اندازه‌گیری جذب (OD)<sup>۲</sup> نمونه کشت در اسپکتوفتومتر در طول موج<sup>۳</sup> ۶۸۰ نانومتر (Manirafasha *et al.*, 2018) اندازه‌گیری شد و با استفاده از معادله کالیبراسیون (بر اساس رابطه‌ای بین OD اسپیرولینا پلاتنسیس در ۶۸۰ نانومتر و بیومس خشک‌شده ریز جلبک موردنظر) به وزن خشک سلولی (g/L) تبدیل شد:

$$\text{Dry weight (g L}^{-1}\text{)} = 0.318 \text{ OD}_{680} - 0.074 \text{ (R}^2 = 0.99\text{)}$$

### روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

این آزمایش با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل با استفاده از دو فاکتور شامل: رقت فاضلاب در ۳ سطح (۷۵، ۵۰، ۲۵ درصد) (Kothari *et al.*, 2013) و غلظت جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در دو سطح (۰/۱، ۰/۰۵) گرم بر لیتر (Costa *et al.*, 2004) در سه تکرار انجام شد. ابتدا نرمال بودن داده‌های خام با آزمون Kolmogorov-smirnow مورد مطالعه قرار گرفت و داده‌های نرمال با تجزیه واریانس دوطرفه (Two-way Anova) بررسی شد و برای مقایسه میانگین تیمارهای مختلف از آزمون LSD در سطح اطمینان ۰/۰۵ استفاده شد. بررسی روند حذف مواد آلی در زمان از آزمون رگرسیون و جهت بررسی ارتباط بین پارامترهای مورد اندازه‌گیری از آزمون همبستگی با نرم‌افزار SPSS-17 و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel-2010 انجام گرفت.

### نتایج

#### نیترات

با توجه به شکل ۱ بیش‌ترین شیب کاهش نیترات مربوط به تیمار رقت ۷۵٪ بود ولی در این تیمار، در انتهای دوره (روز هفتم) میزان نیترات به صفر نرسیده و حذف آن به طور کامل انجام نشد. در ادامه با کاهش رقت از ۷۵٪ به ۲۵٪، شیب کاهش نیترات کم‌تر شد، ولی نکته قابل توجه

### اندازه‌گیری مواد مغذی

جهت اندازه‌گیری مواد مغذی، شاخص‌های کیفیت آب (فسفات، نیترات، آمونیاک) با استفاده از کیت‌های شرکت وگتک<sup>۱</sup> (ساخت انگلستان) و دستگاه فتومتر مدل S12 ساخت کشور UK با توجه به امکانات آزمایشگاهی و شرایط مکانی و زمانی موجود به صورت یک روز در میان سنجش شد. هم‌چنین مقادیر ابتدایی نیترات، فسفات و آمونیاک پساب صنایع لبنی پس از تهیه غلظت‌های مورد استفاده (۲۵، ۵۰، ۷۵ درصد) به ترتیب شامل نیترات (۵۶/۷۱، ۵۲/۸۳، ۵۱/۸۲ میلی‌گرم بر لیتر)، فسفات (۷۸۲، ۷۵۳، ۶۲۱ میلی‌گرم بر لیتر) و آمونیاک (۴۵/۱، ۴۳/۵، ۳۶/۷۲ میلی‌گرم بر لیتر) گزارش شد.

برای تعیین راندمان حذف مواد مغذی از فرمول ذیل استفاده شد (Han *et al.*, 2015):

$$W\% = (C_i - C_0) / C_0 \times 100\%$$

W%: درصد جذب؛  $C_0$ : غلظت در زمان آغازین  $t_0$ ؛  $C_i$ : غلظت در زمان  $t_i$

### برآورد نرخ رشد

با توجه به اندازه‌های متفاوت رشته‌های مارپیچی ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس، این تفاوت اندازه می‌تواند شمارش زیست‌توده این ریزجلبک را دچار خطا و مشکل سازد (El-Kassas *et al.*, 2015). بنابراین، رشد ریز

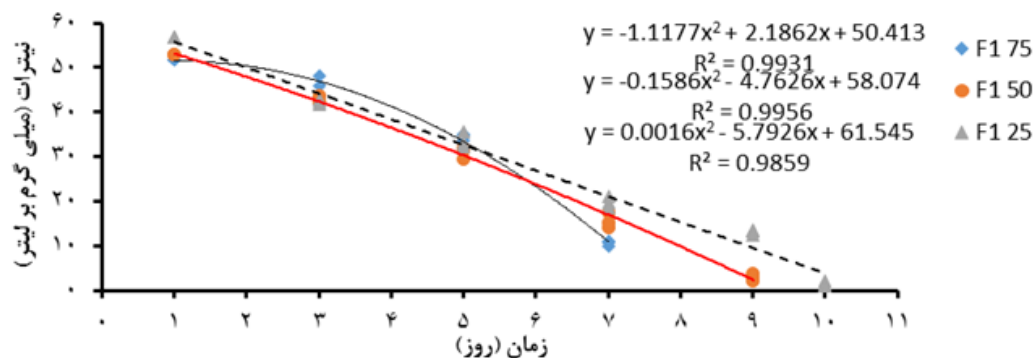
<sup>2</sup> Optical density

<sup>3</sup> Wavelength

<sup>1</sup> Wagtec

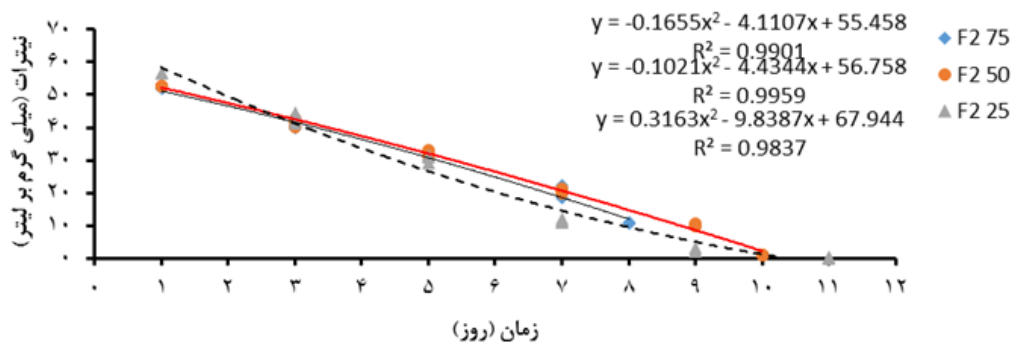
تا روز هشتم آزمایش مقادیر بیش‌تری از کاهش نیترات را نشان داد. به‌علاوه، تیمار ۰/۲۵٪ در روز هفتم الی روز یازدهم آزمایش که میزان نیترات به صفر رسید، روند کاهشی بیش‌تری را نسبت به سایر تیمارها نشان داد. میزان نیترات در طول آزمایش در غلظت ۰/۱ گرم بر لیتر جلبک در فاضلاب در رقت‌های مختلف با اختلاف معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) روند کاهشی داشت. بیش‌ترین شیب کاهش نیترات مربوط به غلظت ۰/۲۵٪ بود.

این است که تنها در رقت ۰/۲۵٪، میزان نیترات به صفر رسید. با توجه به شکل میزان نیترات در طول آزمایش در رقت‌های مختلف فاضلاب و غلظت اولیه جلبک (۰/۰۵) گرم بر لیتر) با اختلاف معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) روند کاهشی داشته است. با توجه به شکل ۲، بررسی روند تغییرات نشان می‌دهد که از نظر نیترات، این روند در تیمارهای پساب ۰/۷۵٪ و ۰/۵۰٪ تا روز هفتم آزمایش مشابه بود ولی تیمار ۰/۵۰٪ در روز دهم به صفر نزدیک شد. اما تیمار ۰/۷۵٪



شکل ۱: میزان نیترات اندازه‌گیری شده در طول آزمایش در رقت‌های مختلف F1<sup>۱</sup>

Figure 1: The amount of nitrate measured during the experiment at different dilutions of F1



شکل ۲: میزان نیترات اندازه‌گیری شده در طول آزمایش در رقت‌های مختلف F2<sup>۲</sup>

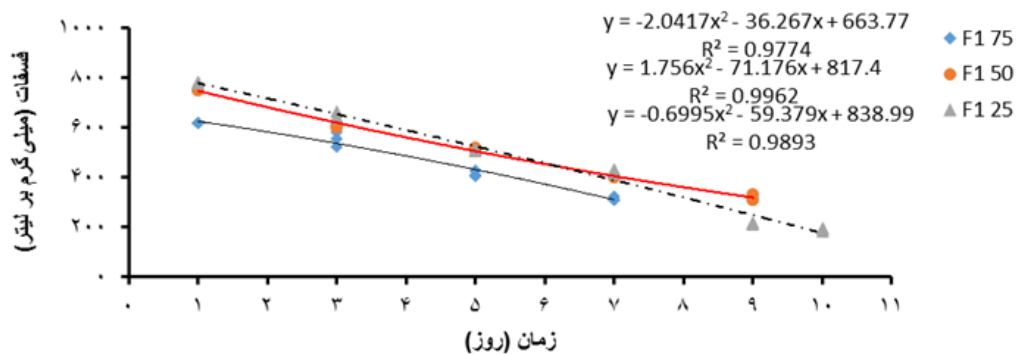
Figure 2: The amount of nitrate measured during the experiment at different dilutions of F2

<sup>۱</sup>فاضلاب با غلظت اولیه ریزجلبک (۰/۰۵ گرم بر لیتر)  
<sup>۲</sup>فاضلاب با غلظت ثانویه ریزجلبک (۰/۱ گرم بر لیتر)

## فسفات

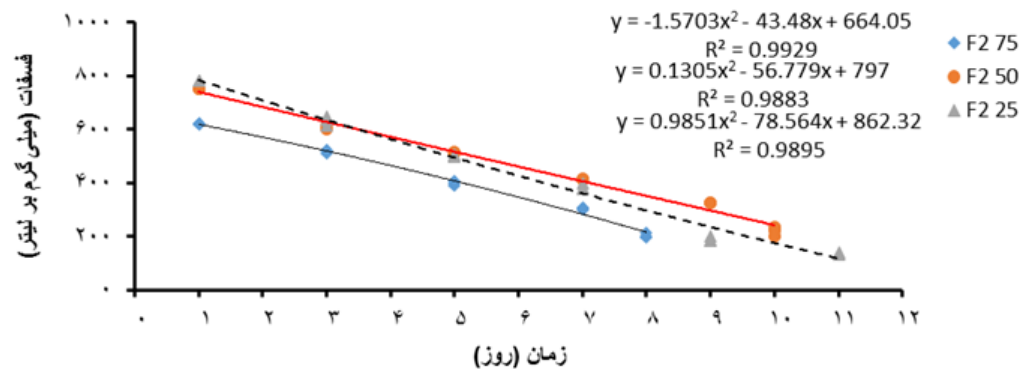
با توجه به شکل ۳، بیش‌ترین شیب کاهش فسفات مربوط به رقت ۲۵٪ بود ولی نکته قابل‌توجه این است که در روز دهم آزمایش در رقت ۲۵٪، فسفات کم‌ترین میزان را نشان داد، اما برخلاف نیترات که در این رقت تقریباً به صفر رسید، میزان آن به صفر نرسید. بررسی روند تغییرات از طریق شکل ۳ نشان می‌دهد که از نظر فسفات، این روند در تمام تیمارها دارای شیب نسبتاً بیشتری نسبت به نیترات می‌باشد. با توجه به این شکل میزان فسفات در طول آزمایش در رقت‌های مختلف فاضلاب و غلظت اولیه جلبک (۰/۵ گرم بر لیتر) با اختلاف معنی‌داری (p<۰/۰۵) روند کاهشی داشت. با توجه به شکل ۴، بررسی روند تغییرات کاهش فسفات نشان می‌دهد که

تیمار ۷۵٪ تا روز هشتم آزمایش مقادیر بیش‌تری از کاهش را نشان داده است. هم‌چنین روند تغییرات در تیمارهای فاضلاب ۵۰ و ۲۵٪ الی روز هفتم آزمایش روند مشابهی داشت، به این صورت که تیمار ۵۰٪ در روز دهم به پایین‌ترین سطح خود رسید و تیمار ۲۵٪ در روز هفتم الی روز یازدهم آزمایش روند کاهشی بیش‌تری را نسبت به سایر تیمارها نشان داد، با این تفاوت که در مورد نیترات تیمارهای ۲۵ و ۵۰٪ به صفر میل کرده بودند. میزان فسفات در طول آزمایش در غلظت ۰/۱ گرم بر لیتر جلبک در فاضلاب در رقت‌های مختلف با اختلاف معنی‌داری (p<۰/۰۵) روند کاهشی داشت. بیش‌ترین شیب کاهش فسفات مربوط به غلظت ۲۵٪ بود.



شکل ۳: میزان فسفات اندازه‌گیری شده در طول آزمایش در رقت‌های مختلف F1

Figure 3: The amount of phosphate measured during the experiment at different dilutions of F1



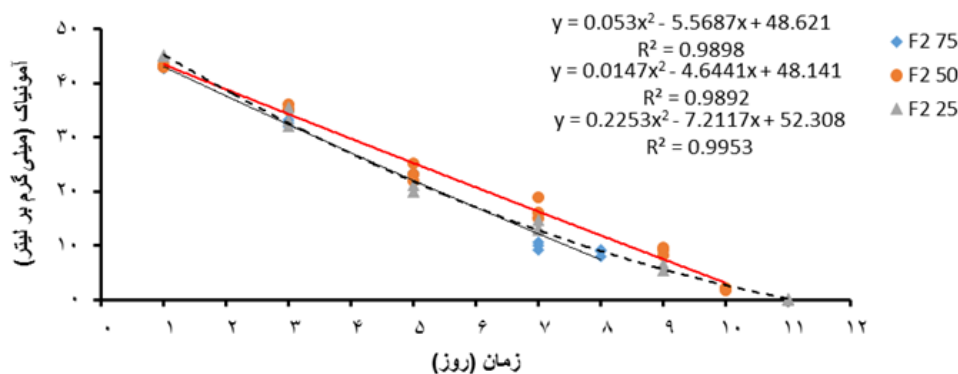
شکل ۴: میزان فسفات اندازه‌گیری شده در طول آزمایش در رقت‌های مختلف F2

Figure 4: The amount of phosphate measured during the experiment at different dilutions of F2

### آمونیاک

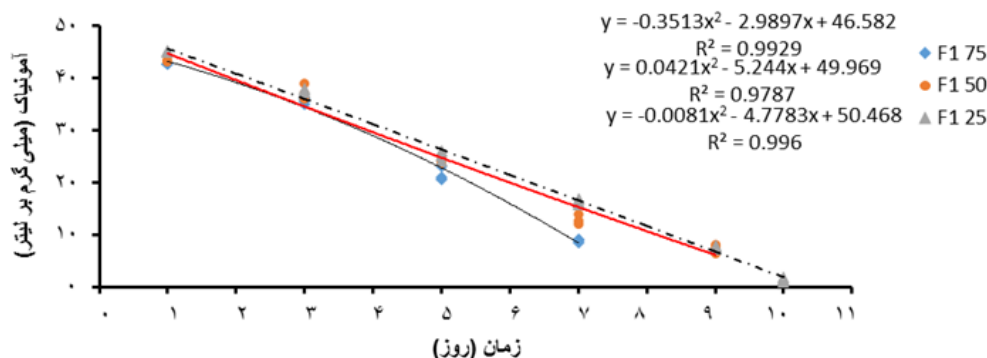
با توجه به شکل ۵، بیشترین شیب کاهش آمونیاک مربوط به تیمار رقت ۷۵٪ بود. بررسی روند تغییرات از طریق شکل نشان می‌دهد که از نظر آمونیاک، از روز اول الی هفتم هر سه تیمار روند تقریباً مشابهی داشتند، اما از روز پنجم الی هفتم تیمار ۷۵٪ مقادیر کمتری از آمونیاک را نسبت به سایر تیمارها نشان داد. تیمار ۵۰ و ۲۵٪ به ترتیب در روزهای دهم و یازدهم آزمایش، دارای کمترین مقادیر بودند و به صفر میل کرده که از این نظر مشابه تیمار ۵۰ و ۲۵٪ نیترات عمل کردند. با توجه به شکل، میزان آمونیاک در طول آزمایش در رقت‌های مختلف فاضلاب و غلظت ثانویه جلبک (۱/۰ گرم بر لیتر) با اختلاف معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) روند کاهشی داشت.

توجه به شکل ۶، بیشترین شیب کاهش مربوط به تیمار ۷۵٪ بود. بررسی روند تغییرات از طریق شکل نشان می‌دهد که از نظر آمونیاک، از روز اول الی هشتم هر سه تیمار روند تقریباً مشابهی داشتند و در این روز تیمار ۷۵٪ مقادیر کمتری از آمونیاک را نسبت به سایر تیمارها نشان داد. تیمار ۵۰ و ۲۵٪ به ترتیب در روزهای دهم و یازدهم آزمایش، دارای کمترین مقادیر بودند و به صفر میل کرده که از این نظر مشابه تیمار ۵۰ و ۲۵٪ نیترات عمل کردند. با توجه به شکل، میزان آمونیاک در طول آزمایش در رقت‌های مختلف فاضلاب و غلظت ثانویه جلبک (۱/۰ گرم بر لیتر) با اختلاف معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) روند کاهشی داشت.



شکل ۵: میزان آمونیاک اندازه‌گیری شده در طول آزمایش در رقت‌های مختلف F2

Figure 5: The amount of ammonia measured during the experiment at different dilutions of F2



شکل ۶: میزان آمونیاک اندازه‌گیری شده در طول آزمایش در رقت‌های مختلف F1

Figure 6: The amount of ammonia measured during the experiment at different dilutions of F1

جدول ۱ نشان می‌دهد که بیشترین و کمترین درصد جذب نیترات، فسفات، آمونیاک به ترتیب (۹۷/۵۰، ۷۵/۶۱، ۹۶/۶۳ درصد) و (۷۹/۵۲، ۴۹/۱۴، ۷۹/۳۳ درصد) مربوط به تیمارهای  $F_1$  ۰/۲۵ و  $F_1$  ۰/۷۵ می‌باشد. هم‌چنین بین درصد جذب نیترات، فسفات، آمونیاک تفاوت معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) وجود دارد. به همین ترتیب، جدول ۲ نیز نشان می‌دهد که بیشترین و کمترین درصد جذب نیترات، فسفات، آمونیاک به ترتیب (۹۹/۸۳، ۸۲/۶۰، ۹۹/۵۸ درصد) و (۷۹/۱۸، ۶۷/۲۰، ۷۹/۴۴ درصد) مربوط به تیمارهای  $F_2$  ۰/۲۵ و  $F_2$  ۰/۷۵ می‌باشد و بین درصد جذب نیترات، فسفات، آمونیاک اختلاف معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) وجود دارد.

در روز سوم، بیشترین مقادیر نیترات در تیمار با غلظت ۰/۰۵ جلبک- رقت ۷۵ درصد فاضلاب مشاهده شد. در روز پنجم، بیشترین میزان نیترات همانند روز سوم مربوط به همان تیمار بود. در روز هفتم بیشترین میزان مربوط به تیمار فاضلاب ۰/۱ جلبک- رقت ۵۰ درصد بود. هم‌چنین در این روز، تیمارهای ۰/۰۵ جلبک- رقت ۷۵ درصد فاضلاب برداشت شدند. در روزهای انتهایی (نهم، دهم، یازدهم) آزمایش، مقادیر نیترات به طور چشمگیری کاهش یافت و حتی در مواردی مثل تیمار فاضلاب با غلظت ۰/۱ جلبک- رقت ۲۵ درصد رقت، تقریباً به صفر نزدیک شد. هم‌چنین در بررسی هر یک از تیمارها در طول زمان مشاهده گردید که مقادیر فسفات نیز به طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۳). بیشترین مقدار فسفات در روز اول، در فاضلاب با رقت ۰/۲۵ و در غلظت‌های ۰/۰۵ و ۰/۱ جلبک مشاهده شد. در روز سوم، بالاترین مقادیر فسفات در تیمار فاضلاب مربوط به غلظت ۰/۰۵ جلبک- رقت ۲۵ درصد رقت بود. در روز پنجم، بیشترین مقادیر فسفات در تیمار فاضلاب با غلظت ۰/۰۵ جلبک- رقت ۵۰ درصد رقت مشاهده شد. در روز هفتم بیشترین میزان مربوط به تیمارهای فاضلاب با غلظت ۰/۰۵ جلبک- رقت ۲۵ درصد بود. هم‌چنین در این روز، تیمارهای ۰/۰۵ جلبک- رقت ۷۵ درصد رقت فاضلاب برداشت شدند. در روز نهم، در تیمار ۰/۱ جلبک- رقت ۵۰ درصد رقت فاضلاب، مقدار فسفات حداکثر مقدار خود را نشان داد و کمترین میزان آن در تیمار ۰/۱ جلبک- رقت ۲۵ درصد رقت فاضلاب مشاهده شد. در ادامه در روز یازدهم نیز کمترین مقدار فسفات در همان تیمار ۰/۱ جلبک- رقت ۲۵ درصد رقت فاضلاب مشاهده شد.

با توجه جدول ۳، در بررسی هر یک از تیمارها در طول زمان مشاهده گردید که مقادیر آمونیاک به طور معنی‌دار کاهش یافت. بیشترین میزان آمونیاک در روز اول، در فاضلاب با رقت ۰/۲۵ مربوط به غلظت‌های ۰/۰۵ و ۰/۱ جلبک بود. در روز سوم، بیشترین مقادیر آمونیاک در تیمار فاضلاب با غلظت ۰/۰۵ جلبک- رقت ۲۵ درصد رقت مشاهده شد. در روز پنجم، بیشترین میزان همانند روز سوم مربوط به همان تیمار بود. در روز هفتم بیشترین

جدول ۱: درصد حذف نیترات، فسفات و آمونیاک در تیمارهای آزمایشی در غلظت اولیه جلبک (۰/۰۵ گرم بر لیتر)

**Table 1: Percentage of nitrate, phosphate and ammonia removal in experimental treatments at initial algal concentration (0.05 g/l)**

| تیمار   | $F_1$ ۰/۲۵         | $F_1$ ۰/۵۰         | $F_1$ ۰/۷۵         |
|---------|--------------------|--------------------|--------------------|
| نیترات  | ۹۷/۵۰ <sup>A</sup> | ۹۴/۴۷ <sup>B</sup> | ۷۹/۵۲ <sup>C</sup> |
| فسفات   | ۷۵/۶۱ <sup>A</sup> | ۵۷/۷۴ <sup>B</sup> | ۴۹/۱۴ <sup>C</sup> |
| آمونیاک | ۹۶/۶۳ <sup>A</sup> | ۸۲/۸۵ <sup>B</sup> | ۷۹/۳۳ <sup>C</sup> |

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در طول آزمایشی در سطح  $\alpha=0/05$  است.

جدول ۲: درصد حذف نیترات، فسفات و آمونیاک در تیمارهای آزمایشی در غلظت ثانویه جلبک (۰/۱ گرم بر لیتر)

**Table 2: Percentage of nitrate, phosphate and ammonia removal in experimental treatments at Secondary algal concentration (0.1 g/l)**

| تیمار   | $F_1$ ۰/۲۵         | $F_1$ ۰/۵۰         | $F_1$ ۰/۷۵         |
|---------|--------------------|--------------------|--------------------|
| نیترات  | ۹۹/۸۵ <sup>A</sup> | ۹۸/۰۴ <sup>B</sup> | ۷۹/۱۸ <sup>C</sup> |
| فسفات   | ۸۲/۶۰ <sup>A</sup> | ۷۰/۹۶ <sup>B</sup> | ۶۷/۰۶ <sup>C</sup> |
| آمونیاک | ۹۹/۸۳ <sup>A</sup> | ۹۵/۱۹ <sup>B</sup> | ۷۹/۴۴ <sup>C</sup> |

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در طول آزمایشی در سطح  $\alpha=0/05$  است.

مطابق با جدول ۳، در بررسی هر یک از تیمارها در طول زمان مشاهده گردید که مقادیر نیترات به طور معنی‌دار کاهش یافت. بیشترین میزان نیترات فاضلاب در روز اول مربوط به رقت ۰/۲۵ و غلظت‌های ۰/۰۵ و ۰/۱ جلبک بود.



دهم، یازدهم) آزمایش، مقادیر آمونیاک به طور چشمگیری کاهش یافت و حتی در مواردی مثل تیمار فاضلاب با غلظت ۰/۱ جلبک- ۲۵ درصد رقت، تقریباً به صفر نزدیک شد.

میزان مربوط به تیمار فاضلاب ۰/۱- رقت ۵۰ درصد بود. هم‌چنین در این روز، تیمارهای ۰/۰۵- جلبک- ۷۵ درصد رقت فاضلاب برداشت شدند. در روزهای انتهایی (نهم،

جدول ۳: میزان نیترات، فسفات و آمونیاک اندازه‌گیری شده در طول آزمایش در تیمارهای مختلف

Table 3: The amount of nitrate, phosphate and ammonia measured during the experiment at different treatments

| تیمار   | غلظت جلبک (گرم بر لیتر) | رقت (درصد) | روز اول                    | روز سوم                   | روز پنجم                   | روز هفتم                  | روز نهم                   | روز یازدهم              |
|---------|-------------------------|------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|
| نیترات  | ۰/۰۵                    | ۷۵         | ۵۱/۸۲±۰/۰۱ <sup>Ad</sup>   | ۴۵/۹±۲/۴ <sup>Ba</sup>    | ۳۴/۴۱±۰/۸۱ <sup>Ca</sup>   | ۱۰/۶۱±۰/۵۷ <sup>Dde</sup> | -                         | -                       |
|         | ۰/۰۵                    | ۵۰         | ۵۲/۸۳±۰/۰۰۶ <sup>Ac</sup>  | ۴۲/۷۸±۰/۹ <sup>Bbc</sup>  | ۳۰/۹۹±۱/۴ <sup>Cabc</sup>  | ۱۵/۶۲±۱/۷ <sup>Db</sup>   | ۲/۹۲±۰/۸۱ <sup>Ed</sup>   | -                       |
|         | ۲۵                      | ۲۵         | ۵۶/۷۱±۰/۰۰۶ <sup>Aa*</sup> | ۴۲/۲۱±۰/۵ <sup>Bc*</sup>  | ۳۳/۶۵±۱/۷۴ <sup>Cab*</sup> | ۱۹/۸۸±۱/۳ <sup>Da*</sup>  | ۱۳/۰۵±۰/۶۵ <sup>Ea*</sup> | ۱/۴۱±۰/۵۶ <sup>Fx</sup> |
| فسفات   | ۰/۱                     | ۷۵         | ۵۱/۸۲±۰/۰۰۶ <sup>Ad</sup>  | ۴۰/۱۸±۰/۲ <sup>Bc*</sup>  | ۳۱/۱۸±۱/۰۳ <sup>Cabc</sup> | ۲۰/۱۷±۲/۱ <sup>Da</sup>   | ۱۰/۷۸±۰/۳ <sup>Eb</sup>   | -                       |
|         | ۰/۱                     | ۵۰         | ۵۲/۸۲±۰/۰۰۶ <sup>Ac*</sup> | ۴۱/۳۷±۱/۳ <sup>Bc*</sup>  | ۳۲/۳۶±۰/۹ <sup>Cabc*</sup> | ۲۰/۵۷±۰/۷ <sup>Da*</sup>  | ۱۰/۱۲±۰/۳ <sup>Eb*</sup>  | ۱/۰۳±۰/۰۷ <sup>Fx</sup> |
|         | ۲۵                      | ۲۵         | ۵۶/۷۴±۰/۰۰۶ <sup>Aa*</sup> | ۴۲/۷۲±۱/۷ <sup>Bbc*</sup> | ۳۰/۴۸±۱/۰۵ <sup>Cbc*</sup> | ۱۱/۵۰±۰/۶ <sup>Dde*</sup> | ۲/۴۲±۰/۵ <sup>Ed*</sup>   | ۰/۰۸±۰/۰۴ <sup>F</sup>  |
| آمونیاک | ۰/۰۵                    | ۷۵         | ۶۲۰±۱/۰۰ <sup>Ae</sup>     | ۵۵۳±۲۹/۰۵ <sup>Bd</sup>   | ۴۱۵±۱۱/۷۹ <sup>Cd</sup>    | ۳۱۵±۶/۶۵ <sup>Df</sup>    | -                         | -                       |
|         | ۰/۰۵                    | ۵۰         | ۷۵۳±۰/۵۸ <sup>Ac</sup>     | ۶۰۷±۴/۱۶ <sup>Bc</sup>    | ۵۱۶±۴/۷۲ <sup>Cb</sup>     | ۴۰۴±۳/۰۵ <sup>Dcd</sup>   | ۳۰۳±۱۲/۱۶ <sup>Eb</sup>   | -                       |
|         | ۲۵                      | ۲۵         | ۷۸۲±۱/۰۰ <sup>Aa*</sup>    | ۶۵۱±۱۲/۷۷ <sup>Ba*</sup>  | ۵۱۱±۳/۶۰ <sup>Cb*</sup>    | ۴۲۲±۸/۷۳ <sup>Db*</sup>   | ۲۱۳±۴/۷۲ <sup>Ed*</sup>   | ۱۹۱±۸/۷۴ (دهم)          |
| آمونیاک | ۰/۱                     | ۷۵         | ۶۲۱±۱/۰۰ <sup>Ae</sup>     | ۵۱۸±۷/۹۴ <sup>Be</sup>    | ۳۹۸±۷/۵۰ <sup>Ce</sup>     | ۳۰۳±۴/۰۴ <sup>Dg</sup>    | ۲۰۳±۷/۳۷ <sup>Ed</sup>    | -                       |
|         | ۰/۱                     | ۵۰         | ۷۵۲±۱/۰۰ <sup>Ac*</sup>    | ۶۰۹±۷/۰۹ <sup>Bbc*</sup>  | ۵۱۳±۴/۰۰ <sup>Cb*</sup>    | ۴۱۲±۲/۰۸ <sup>Dbc*</sup>  | ۳۲۶±۱/۵۳ <sup>Ea*</sup>   | ۲۱۸±۱۷/۱۶ (دهم)         |
|         | ۲۵                      | ۲۵         | ۷۸۲±۰/۵۸ <sup>Aa*</sup>    | ۶۳۳±۱۷/۰۹ <sup>Bab*</sup> | ۵۰۱±۳/۵۱ <sup>Cb*</sup>    | ۳۸۵±۱۱/۷۲ <sup>De*</sup>  | ۱۹۱±۷/۳۷ <sup>Ee*</sup>   | ۱۳۶±۴/۵۸                |
| آمونیاک | ۰/۰۵                    | ۷۵         | ۴۲/۸۳±۰/۰۰۶ <sup>Ac</sup>  | ۳۵/۶۸±۰/۵۳ <sup>Bb</sup>  | ۲۱/۶۲±۱/۳۸ <sup>Ccd</sup>  | ۸/۸۵±۰/۳۰ <sup>Dde</sup>  | -                         | -                       |
|         | ۰/۰۵                    | ۵۰         | ۴۳/۴۰±۰/۰۰۱ <sup>Ab</sup>  | ۳۷/۴۶±۱/۵۰ <sup>Ba</sup>  | ۲۴/۴۸±۰/۶۶ <sup>Cab</sup>  | ۱۲/۹۱±۰/۹۳ <sup>Dbc</sup> | ۷/۴۴±۰/۸۳ <sup>Eb</sup>   | -                       |
|         | ۲۵                      | ۲۵         | ۴۵/۱۳±۰/۰۰۶ <sup>Aa*</sup> | ۳۷/۵۸±۰/۴۳ <sup>Ba*</sup> | ۲۵/۲۵±۰/۹۸ <sup>Ca*</sup>  | ۱۶/۳۴±۰/۴۶ <sup>Da*</sup> | ۷/۶۲±۰/۳۷ <sup>Eb*</sup>  | ۱/۵۲±۰/۳۹ (دهم)         |
| آمونیاک | ۰/۱                     | ۷۵         | ۴۲/۷۲±۰/۰۰۶ <sup>Ac</sup>  | ۳۲/۷۲±۰/۵۵ <sup>Bc</sup>  | ۲۲/۹۴±۰/۶۸ <sup>Cbc</sup>  | ۱۰/۰۰±۰/۶۷ <sup>Dd</sup>  | ۸/۸۰±۰/۶۲ <sup>Ea</sup>   | -                       |
|         | ۰/۱                     | ۵۰         | ۴۳/۳۰±۰/۰۰۲ <sup>Ab*</sup> | ۳۵/۵۰±۰/۶۱ <sup>Bb*</sup> | ۲۳/۴۴±۱/۶۲ <sup>Cb*</sup>  | ۱۶/۷۷±۱/۹۸ <sup>Da*</sup> | ۹/۰۶±۰/۶۷ <sup>Ea*</sup>  | ۲/۰۸±۰/۲۳ (دهم)         |
|         | ۲۵                      | ۲۵         | ۴۵/۱۳±۰/۰۰۶ <sup>Aa*</sup> | ۳۳/۶۲±۱/۷۴ <sup>Bc*</sup> | ۲۰/۴۱±۰/۶۷ <sup>Cd*</sup>  | ۱۳/۶۳±۰/۹۵ <sup>Db*</sup> | ۵/۷۹±۰/۶۶ <sup>Ee*</sup>  | ۰/۰۷±۰/۰۵               |

حروف بزرگ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار هر ردیف و حروف کوچک اختلاف معنی‌دار در هر ستون است.

## بحث

ریز جلبک (۰/۰۵ گرم بر لیتر) در تمام تیمارهای رقت ۵۰ و ۲۵٪ فاضلاب، بیش از ۹۰٪ از نیترات پس از فرایند تصفیه حذف گردید درحالی‌که این روند در تیمارهای ۷۵٪ فاضلاب، پایین‌تر گزارش شد. بدین ترتیب، تیمار ۲۵٪ F<sub>1</sub> با ۹۷/۵۰٪، در حذف نیترات مؤثرتر عمل کرده است. در غلظت ثانویه ریز جلبک (۰/۱ گرم بر لیتر) نیز تیمارهای ۲۵٪ F<sub>2</sub> و ۵۰٪ F<sub>2</sub> به ترتیب با ۹۹/۸۵٪، ۹۸/۰۴٪ کارایی بالاتری در حذف نیترات نسبت به غلظت

کارایی حذف مواد مغذی با توجه به ترکیب محیط کشت و شرایط محیطی شامل غلظت اولیه مواد مغذی، شدت نور، نسبت نیتروژن به فسفر، دوره نوری (روشنایی/ تاریکی)، و گونه‌های جلبک متفاوت است (Aslan and Kapdan, 2006). نیترات می‌تواند به طور گسترده به‌وسیله سیانوباکتری‌ها مورد استفاده قرار گیرد (Herrero and Guerrero, 1986). در مطالعه حاضر، در غلظت اولیه

می‌تواند به علت مقادیر پایین‌تر مواد مغذی در این رقت‌ها باشد. Hena و همکاران (۲۰۱۵) به مطالعه‌ای با عنوان کشت کنسرسیون جلبکی در یک فاضلاب لبنی جهت تولید بیودیزل پرداختند و عنوان کردند میزان فسفات با مقدار ابتدایی  $4/68$  میلی‌گرم بر لیتر طی چهار روز همراه با افزایش بیومس تا  $98/8\%$  کاهش یافت و به  $0/057$  میلی‌گرم بر لیتر رسید که با توجه به این‌که مقادیر ابتدایی فسفات در این تحقیق برخلاف مطالعه حاضر پایین بود، نتایج این مطالعه با تحقیقات مطالعه حاضر هم‌خوانی نداشت. در آزمایش Kothari و همکاران (۲۰۱۳) که تصفیه زیستی فاضلاب لبنی با جلبک *Chlamydomonas polypyrenoideum* انجام شد، تقریباً مشابه با نتایج مطالعه حاضر، سطح فسفات تا  $70\%$  کاهش یافت. فسفر عنصری اساسی برای ریز جلبک‌هاست که جهت فعالیت‌های متابولیک، انتقال انرژی و فسفولیپید و تولید DNA ضروری است (Richmond, 2008). Olguin و همکاران (۲۰۰۳) توانستند میزان فسفات موجود در فاضلاب خوکی را تا  $72-87\%$  با کشت اسپیرولینا پلاتنسیس کاهش دهند که منطبق با نتایج تحقیق حاضر بود. هیچ‌کدام از تیمارهای به‌کار رفته در این آزمایش قادر به کاهش فسفر به مقداری که برای محیط‌های حساس ایمن باشد، نبودند. بر اساس مقادیر موجود در استاندارد خروجی فاضلاب در ایران، میزان مجاز فسفات برحسب فسفر بر ورود به آبهای سطحی و زیرزمینی  $6$  میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. در نتیجه، چنانچه برای این دو کاربرد برنامه‌ای وجود داشته باشد، بایستی کاهش بیش‌تر فسفات طی تصفیه در دستور کار قرار گیرد، اگرچه از نظر کاربرد آن در کشاورزی و آبیاری محدودیتی وجود ندارد. آمونیاک از طریق انتشار وارد سلول جلبکی می‌گردد و تنها برخی از سیانوباکتری‌ها دارای مکانیسم انتقال فعال برای انتقال آمونیاک می‌باشند (Post, 1993). در بررسی‌های انجام شده، در غلظت اولیه ریز جلبک  $0/05$  گرم بر لیتر در تیمار  $F_1$   $25\%$  فرایند حذف آمونیاک بالاتر از  $90\%$  بود و این مقدار با  $96/63\%$  بالاترین کارایی حذف آمونیاک را نشان داد. هم‌چنین در غلظت ثانویه ریز جلبک  $0/1$  گرم بر لیتر نیز، تیمار  $F_2$   $25\%$  با  $99/83\%$  بیش‌ترین و تیمار

اولیه نشان دادند گرچه این اختلاف بسیار ناچیز گزارش شد. به‌این‌ترتیب می‌توان چنین بیان کرد که در هر دو غلظت ریز جلبک، کاهش رقت سبب افزایش کارایی ریز جلبک به‌کار رفته در حذف نیترات گردید و در رقت‌های پایین‌تر، شرایط مناسب جهت رشد ریز جلبک که می‌تواند شامل میزان مواد مغذی موجود در محیط کشت باشد، برقرار بود. Brar و همکاران (۲۰۱۹) در نسبت‌های مختلف فاضلاب لبنی رقیق‌شده با محیط کشت BG-11، به‌ترتیب حداکثر درصد حذف نیترات به‌وسیله جلبک‌های *Anabaena*، *Chlorella pyrenoidosa*، *Scenedesmus abundans*، *ambigua* را برابر با  $88/91\%$ ،  $89/52\%$ ،  $84/72\%$  گزارش کردند که این مقدار حذف در نسبت (۳:۱) فاضلاب لبنی که دارای بیش‌ترین میزان فاضلاب بود، انجام گرفت. بدین‌ترتیب، به‌نظر می‌رسد در این تحقیق نیز مشابه نتایج مطالعه حاضر، با افزایش میزان فاضلاب لبنی کارایی حذف نیترات افزایش یافته است. Hena و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که اسپیرولینا پلاتنسیس کشت داده شده در فاضلاب لبنی قادر است نیترات را تا  $99/6\%$  حذف کند. حداکثر مقدار حذف در این مطالعه نیز  $99/85\%$  بود. Yang و همکاران (۲۰۰۸) با پرورش اسپیرولینا پلاتنسیس در محیط کشت ادرار به‌بازیابی نیتروژن در حدود  $99\%$  پرداختند. بر اساس آیین‌نامه استانداردهای خروجی فاضلاب‌ها، میزان مجاز نیترات برای ورود به آبهای سطحی  $50$  میلی‌گرم بر لیتر و برای ورود به آبهای زیرزمینی  $10$  میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. با توجه به این‌که در انتهای آزمایش، این مقدار به  $0/08$  گرم بر لیتر رسید، فاضلاب از نظر نیترات، دارای شرایط رها شدن به محیط می‌باشد. یکی از پارامترهای مهم دیگر در ارزیابی کارایی ریز جلبک در بهبود کیفیت فاضلاب، فسفات می‌باشد. بیشترین جذب فسفات در فاضلاب در غلظت اولیه  $0/05$  گرم بر لیتر) ریز جلبک، میزان  $75/61\%$  بود که در رقت  $25\%$  رخ داد. در غلظت ثانویه نیز شرایط به همین ترتیب بود و حداکثر جذب فسفات، میزان  $82/60\%$  در رقت  $25\%$  بود که نسبت به غلظت اولیه بالاتر بود و بدین‌ترتیب همانند نیترات، درصد حذف فسفات در تیمارهای رقیق‌تر کم‌تر گزارش شد که

(۲۰۱۳) بیان کردند که غلظت بالاتر مواد مغذی منجر به رشد ریز جلبک‌ها در یک پتانسیل رشد بالاتر می‌شود. در مطالعه حاضر، مشاهده شد که با کاهش میزان رقیق‌سازی و در پی آن افزایش درصد فاضلاب لبنی، میزان بیومس افزایش یافت. Kothari و همکاران (۲۰۱۳) در بخشی از تحقیق خود رشد جلبک *C. polypyrenoidum* را از نظر افزایش تراکم نوری در ۶۵۰ نانومتر در غلظت‌های مختلف (۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ درصد) فاضلاب لبنی مورد بررسی قرار دادند و بیان کردند که رشد جلبک با افزایش غلظت فاضلاب افزایش یافته و بدین ترتیب، غلظت ۷۵٪ با دارا بودن حداکثر میزان فاضلاب، بهترین عملکرد را از خود نشان داده است و علت احتمالی میزان پایین‌تر رشد در سایر غلظت‌ها را کمبود مواد مغذی گزارش کردند. Canizares و همکاران (۱۹۹۳) در بررسی خود در زمینه پرورش *Spirulina maxima* در فاضلاب خوکی هوادهی شده بیان کردند که اسپیرولینا در رقت‌های مختلف فاضلاب حتی رقت‌های پایین به خوبی رشد می‌کند که می‌تواند نشان‌دهنده تحمل بالای آن به غلظت آلاینده‌های غیر آلی موجود در فاضلاب باشد. Markou و همکاران (۲۰۱۲) نیز به کشت اسپیرولینا پلاتنسیس به مدت ۱۴ روز در فاضلاب کارخانه روغن‌زیتون تحت تصفیه با  $\text{NaClO}$ <sup>۱</sup> پرداختند و به کمک  $\text{NaClO}$  مقادیر کدورت و فنول را کاهش دادند و بدین ترتیب، بالاترین میزان بیومس تولیدی را برابر با ۱/۷ گرم بر لیتر اعلام کردند که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی داشت. Pham and Bui (۲۰۲۰) با هدف بررسی کارایی حذف مواد مغذی از فاضلاب کود گیاهی، غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر جلبک سندسموس را به عنوان بیومس ابتدائی مورد مطالعه قرار دادند و به دنبال آن غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر این ریز جلبک را به عنوان بهترین تیمار معرفی کردند. در واقع، این محققان در یک نتیجه‌گیری کلی بیان کردند که در راستای مطالعات پیشین صورت گرفته با افزایش بیومس ابتدائی ریز جلبک، جذب مواد مغذی در فاضلاب‌های مختلف افزایش می‌یابد. در تحقیق حاضر نیز

۷۵٪  $\text{F}_2$  با ۷۹/۴۴٪ دارای کم‌ترین میزان حذف آمونیاک بود که همانند غلظت اولیه (۰/۰۵ گرم بر لیتر)، با کاهش رقیق‌سازی میزان کارایی حذف آمونیاک افزایش یافته و غلظت ثانویه (۰/۱ گرم بر لیتر) ریز جلبک نسبت به غلظت اولیه (۰/۰۵ گرم بر لیتر)، موثرتر عمل کرده است. مطالعات Gao و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد که جلبک زمانی نیترات را استفاده می‌کند که میزان آمونیوم از یک سطح مشخص کمتر شود یا کاملاً محیط خالی از آمونیوم گردد. شاید دلیل این امر این باشد که برخی از آنزیم‌ها از قبیل نیترات ردوکتاز جلبکی نیاز به زمان دارند تا ساخته شوند و جلبک بتواند از نیترات استفاده نماید که سرعت ساخت این آنزیم‌ها و استفاده از نیترات در این مطالعه در تیمارهای غلیظ‌تر بیش‌تر بود. Hena و همکاران (۲۰۱۵) اعلام کردند میزان آمونیاک موجود در فاضلاب لبنی با غلظت اولیه ۰/۹۹۸ میلی‌گرم بر لیتر به وسیله کشت کنسرسیوم جلبکی هم‌زمان با افزایش بیومس، در مدت کوتاه ۱۸ ساعت به صفر رسید که در مطالعه حاضر نیز با توجه به مقادیر اولیه بسیار بالاتر آمونیاک نسبت به مطالعه حاضر، در رقت ۲۵٪ فاضلاب در مدت زمان تقریبی یازده روز این میزان به حدود صفر رسید. هم‌چنین در آزمایش Hena و همکاران (۲۰۱۸)، آمونیاک موجود در فاضلاب لبنی به وسیله ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس ۱۰۰٪ حذف شد که با توجه به حذف بالاتر از ۹۹٪ آمونیاک در آزمایش حاضر، نتایج این مطالعه در راستای نتایج تحقیق صورت گرفته بود. به علاوه، طبق استاندارد محیط‌زیست ایران، میزان آمونیاک مجاز جهت تخلیه به آب‌های سطحی و زیرزمینی به ترتیب برابر با ۲/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد و این مقدار در انتهای این مطالعه به ۰/۰۷ میلی‌گرم بر لیتر رسید که از حد استاندارد محیط‌زیست بسیار کمتر می‌باشد. حداکثر میزان بیومس، در رقت ۲۵٪ فاضلاب مشاهده شد که به ترتیب در غلظت اولیه و ثانویه برابر با ۰/۱۹۸۲±۰/۰۱ و ۱/۶۹۰±۰/۰۱ گرم بر لیتر گزارش شد. بدین ترتیب، بیومس در غلظت ثانویه مقادیر بسیار بیش‌تری نسبت به غلظت اولیه نشان داد که می‌تواند بیانگر ارتباطی قوی بین غلظت ابتدایی تزریقی و بیومس نهایی ریز جلبک موردنظر باشد. Prajapati و همکاران

<sup>۱</sup> هیپوکلریت سدیم

دریای خزر بر پارامترهای رشد ریز جلبک (*Spirulina platensis*). فصلنامه تغذیه و بیوشیمی

آزبان، ۱ (۱): ۸۱-۷۱.

شکوهی، م.، ۱۳۹۰. عملکرد صافی چکنده بیولوژیکی با بستر طبیعی در تصفیه فاضلاب صنایع لبنی - مطالعه موردی کارخانه شیر پاستوریزه پگاه. پایان‌نامه، مهندسی محیط‌زیست، دانشگاه تهران.

Ahmed, S.G.K.A., 2014. Dairy wastewater treatment using microalgae in karbala city. *Iraq - International Journal of Environment Ecology Family and Urban Studies (IJEEFUS)*, 4(2): 13-22. DOI: 10.1002/bit.260160703.15

Aslan, S. and Kapdan, I.K., 2006. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. *Ecological Engineering*, 28(1): 64-70. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2006.04.003

Brar, A., Kumar, M. and Pareek, N., 2019. Comparative appraisal of biomass production, remediation, and bioenergy generation potential of microalgae in dairy wastewater. *Frontiers in Microbiology*, 10: 678. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00678

Canizares, R.O., Domínguez, A.R., Rivas, L., Montes, M.C., Travieso, L. and Benitez, F., 1993. Free and immobilized cultures of *Spirulina maxima* for swine waste treatment. *Biotechnology Letters*, 15: 321-326. DOI: 10.1007/BF00128327

Costa, J.A.V., Colla, L.M. and Duarte, P.F., 2004. Improving *Spirulina platensis* biomass yield using a fed-batch process. *Bioresource Technology*, 92(3): 237-241. DOI: 10.1016/j.biortech.2003.09.013.

با افزایش بیومس ابتدائی ریز جلبک از ۰/۰۵ به ۰/۱ گرم بر لیتر، جذب مواد مغذی (نیترات، فسفات، آمونیاک) در فاضلاب لبنی افزایش یافت. در مجموع، می‌توان چنین نتیجه گرفت که ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس توانایی بالایی در حذف مواد مغذی (نیترات، فسفات، آمونیاک) از فاضلاب صنایع لبنی دارد که در این بین رقت ۲۵٪ این فاضلاب دارای بهترین عملکرد بود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه با عنوان تصفیه پساب و فاضلاب صنایع لبنی با استفاده از ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس و تولید پروتئین و اسیدآمینو حاصل از آن در مقطع دکترا می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان اجرا شد.

### منابع

احمدپور، ن.، صیادی، م.ح.، کپورچالی، م.ف. و رضائی، م.ر.، ۱۳۹۴. حذف فسفات به‌وسیله ریز جلبک‌ها از پساب خروجی فاضلاب شهری در شرایط آزمایشگاهی. مجله زیست‌فناوری دانشگاه تربیت مدرس، ۲۶(۲): ۵۲-۴۹.

باقری، ش.، معصومی زاده، زهرا، ۱۳۹۵. بررسی رشد میکروجلبک *Chlorella sp* در آب دریا و فاضلاب غیراستریل. مجله علمی شیلات ایران، ۲۶(۲): ۱۶۲-۱۵۳.

جریان، ر.، فاطمی، س.م. ر.، و ماشین چیان، م.ع.، ۱۳۹۸. بررسی تاثیر دما و عناصر منیسم و آهن بر میسان رشد و توده زنده جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۸(۶): ۷۸-۶۹.

چنگانی، ز.، مدرس، ع. و افشارزاده، س.، ۱۳۹۰. تصفیه فاضلاب با استفاده از کشت ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس. اولین همایش ملی گیاه‌پالایی، کرمان.

حسین زاده، خ.، خناری، گ.ع. و جعفری، س.م.، ۱۳۹۳. بررسی تاثیر غنی‌سازی آب حوضه جنوبی

- Daneshvar, E., Zarrinmehr, M.J., Koutra, E., Kornaros, M., Farhadian, O. and Bhatnagar, A., 2019.** Sequential cultivation of microalgae in raw and recycled dairy wastewater: microalgal growth, wastewater treatment and biochemical composition. *Bioresource Technology*, 273: 556-564. DOI:10.1016/j.biortech.2018.11.059
- Demirel, B., Yenigun, O. and Onay, T.T., 2005.** Anaerobic treatment of dairy wastewater: a review. *Process Biochemistry*, 40: 2583-2595. DOI: 10.1016/j.procbio.2004.12.015
- El-Kassas, H.Y., Heneash, A.M.M. and Hussein, N.R., 2015.** Cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* using confectionary wastes for aquaculture feeding. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 13: 145-155. DOI: 10.1016/j.jgeb.2015.08.003
- Gao, f., Yang, Z.H., Li, C., Wang, Y.J., Jin, W.H. and Deng, Y.B., 2014.** Concentrated microalgae cultivation in treated sewage by membrane photobioreactor operated in batch flow mode. *Bioresource Technology*, 167: 441-446. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.06.042
- Hadiyanto, H., Christwardana, M. and Soetrisantanto, D., 2013.** Phytoremediations of palm mill effluent by using aquatic plants and microalgae for biomass production. *Journal of Environmental Science and Technology*, 6(2): 79-90. DOI: 10.3923/jest.2013.79.90
- Han, L., Pei, H., Hu, W., Jiang, L., Ma, G., Zhang, S. and Han, F., 2015.** Integrated campus sewage treatment and biomass production by *Scenedesmus quadricauda* SDEC-13. *Bioresource Technology*, 175: 262-268. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.10.100
- Hena, S., Fatimah, S. and Tabassum, S., 2015.** Cultivation of algae consortium in a dairy farm wastewater for biodiesel production. *Water Resources and Industry*, 10: 1-4. DOI: 10.1016/j.wri.2015.02.002.
- Hena, S., Znad, H., Heong, K. and Judd, S., 2018.** Dairy farm wastewater treatment and lipid accumulation by *Arthrospira platensis*. *Water Research*, 128: 267-277. DOI: 10.1016/j.watres.2017.10.057
- Herrero, A. and Guerrero, M.G., 1986.** Regulation of nitrite reductase in the cyanobacterium *Anacystis nidulans*. *Journal of General Microbiology*, 132: 2463-2468. DOI:10.1099/00221287-132-9-2463
- Kothari, R., Prasad, R., Kumar, V. and Singh, D.P., 2013.** Production of biodiesel from microalgae *Chlamydomonas polypyrenoideum* grown on dairy industry wastewater. *Bioresource Technology*, 144: 499-503. DOI:10.1016/j.biortech.2013.06.116
- Kotteswari, M., Murugesan, S. and Rk, R., 2012.** Phycoremediation of Dairy Effluent by using the Microalgae *Nostoc sp.* *International Journal of Environmental Research and Development*, 2(1): 35-43. DOI:10.1007/s10811-006-9148-1

- Mallick, N., 2002.** Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N, P and metal removal: a review. *BioMetals*, 15: 377–390. DOI: 10.1023/A:1020238520948
- Manirafasha, E., Murwanashyaka, T., Ndikubwimana, T., Rashid Ahmed, N., Liu, J., Lu, Y., Zeng, X., Ling, X. and Jing, K., 2018.** Enhancement of cell growth and phycocyanin production in *Arthrospira (Spirulina) platensis* by metabolic stress and nitrate fed-batch. *Bioresource Technology*, 255: 293–301. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.12.068
- Markou, G., Chatzipavlidis, G. and Georgakakis, D., 2012.** Cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* in olive-oil mill wastewater treated with sodium hypochlorite. *Bioresource Technology*, 112: 234-241. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.02.098
- Mata, T.M., Martins, A.A. and Caetano, N.S., 2010.** Microalgae for biodiesel production and other applications: A Review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1): 217- 232. DOI:10.1016/j.rser.2009.07.020
- Munoz, R., Alvarez, T., Munoz, A., Terrazas, E., Guieysse, B. and Mattiasson, B., 2006.** Sequential removal of heavy metals ions and organic pollutants using an algal-bacterial consortium. *Chemosphere*, 63: 903-911. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2005.09.062
- Olguin, E.J., Galicia, S., Mercado, G. and Perez, T., 2003.** Annual productivity of *Spirulina (Arthrospira)* and nutrient removal in a pig wastewater recycle process under tropical conditions. *Journal of Applied Psychology*, 15: 249–257. DOI: 10.1023/A:1023856702544
- Pham, T.L. and Bui, M.H., 2020.** Removal of Nutrients from Fertilizer Plant Wastewater Using *Scenedesmus sp* Formation of Biofloculation and Enhancement of Removal Efficiency. *Journal of Chemistry*, 1-9. DOI: 10.1155/2020/8094272
- Post, A.F., 1993.** Ammonia enhanced dark respiration in *Chlorella vulgaris* is related to collapse of a transmembrane pH gradient. *FEMS Microbiology Letters*, 113(1): 9-14. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1993.tb06480
- Prajapati, S.K., Kaushik, P., Malik, A. and Vijay, V.K., 2013.** Phycoremediation and biogas potential of native algal isolates from soil and wastewater. *Bioresource Technology*, 135: 232–238. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.08.069
- Rawat, I., Ranjith Kumar, R., Mutanda, T. and Bux, F., 2010.** Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *App Energy*. DOI:10.1016/j.apenergy.2010.11.025
- Richmond, A., 2008.** Handbook of microalgal culture. *Biotechnology and Applied Phycology*, Hoboken: Wiley. DOI: 10.1002/9780470995280.ch31

- Ruiz-Marin, A., Mendoza-Espinosa, L.G. and Stephenson, T., 2010.** Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. *Bioresource Technology*, 101: 58-64. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.02.076
- Shi, J., Pandey, P.K., Franz, A.K., Deng, H. and Jeannotte, R., 2016.** *Chlorella vulgaris* production enhancement with supplementation of synthetic medium in dairy manure wastewater. *AMB express*, 6(15): 1-9. DOI: 10.1016/j.apenergy.2015.04.074
- Vonshak, A., 1997.** *Spirulina platensis (Arthrospira)*: Physiology, Cell Biology and Biotechnology. Taylor and Francis Ltd, London, pp. 175-204. DOI: 10.1201/9781482272970
- Wuang, S.C., Khin, M.C., Chua, P.Q.D. and Luo, Y.D., 2016.** Use of *Spirulina* biomass produced from treatment of aquaculture wastewater as agricultural fertilizers. *Algal Res.* 15: 59-64. DOI: 10.1016/j.algal.2016.02.009
- Yang, C., Liu, H., Li, M., Yu, C. and Yu, G., 2008.** Treating urine by *Spirulina platensis*. *Acta Astronaut.* 63: 1049-1054. DOI:10.1016/j.actaastro.2008.03.008
- Yang, J., Li, X., Hua, H., Zhang, X., Yu, Y. and Chen, Y., 2011.** Growth and lipid accumulation properties of a freshwater microalga, *Chlorella ellipsoidea* YJ1, in domestic secondary effluents. *Applied Energy*, 88(10): 3295-3299. DOI: 10.1016/j.apenergy.2010.11.029
- Yuan, X., Kumar, A., Sahu, A.K. and Ergas, S.J., 2011.** Impact of ammonia concentration on growth in an airlift photobioreactor. *Bioresource Technology*, 102: 3234-3239. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.11.019.
- Zhu, L., Wang, Z., Shu, Q., Takala, J., Hiltunen, E., Feng, P. and Yuan, Z., 2013.** Nutrient removal and biodiesel production by integration of freshwater algae cultivation with piggery wastewater treatment. *Water Research*, 47: 4294-4302. DOI:10.1016/j.watres.2013.05.004.

## Wastewater treatment of dairy industry using *Spirulina platensis* microalgae

Miramini H.S.<sup>1\*</sup>; Hosseini S.A.<sup>1</sup>; Ghorbani R.<sup>1</sup>; Noori F.<sup>2</sup>; Rezaei H.<sup>3</sup>

\*Miramini\_h@yahoo.com

1-Department of Aquatic Production and Exploitation, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Recourses, Gorgan, Iran.

2-Artemia and Aquaculture Research Institute, Department of Biology and Reproduction, Faculty of Fisheries, Urumieh University, Urumieh, Iran.

3-Department of Environment, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Recourses, Gorgan, Iran.

### Abstract

In this study, the ability of *Spirulina platensis* microalgae in dairy wastewater treatment and nutrient removal associated with biomass production was evaluated. Therefore, two concentrations of *Spirulina platensis* (0/05 and 0/1 g/L) were cultured in three dilutions (25, 50, 75%) of dairy wastewater and the efficiency of nutrient removal and biomass production was evaluated with six treatments in three replications. Nutrient and biomass values were measured on every other day. The results showed that both factors of different concentrations of algae and different dilutions of wastewater had an important role in nutrient absorption and biomass production. The highest percentages of nitrate, phosphate, ammonia removal (99/85, 82/60, 99/83%) and maximum amount of biomass (1/690±0/01 g/l) in 25% dilution and concentration of 0/1 g/l microalgae was obtained. In this research, by decreasing percentage of dilution of dairy industry wastewater and increasing amount of nutrients available in microalgae and also by increasing the initial concentration of injectable microalgae in the wastewater, more nutrients were removed, and the nitrate and ammonia levels were almost 100% eliminated and the amount of biomass increased. As a result, according to the results, *Spirulina platensis* microalgae has a high performance in removing nutrients (nitrate, phosphate, ammonia) from dairy industry wastewater and can be considered for dairy industry wastewater treatment.

**Keywords:** Dairy wastewater, Treatment, *Spirulina platensis*, Nutrients

---

\*Corresponding author