



University of Tehran

## Reduction of COD, Phosphorus, and Nitrogen in industrial wastewater through cultivation of *Chlorella vulgaris* in a bioelectrochemical system

Seyedeh Masoomeh Shafiei Darabi<sup>1</sup> | Parichehr Hanachi<sup>1\*</sup> | Azizalah Shafie Khani<sup>3</sup> | Tony Robert Walker<sup>4</sup>

1. Department of Biotechnology, Faculty of Biological Science, Alzahra University, Tehran, Iran. Email: [m.shafiei@alzahra.ac.ir](mailto:m.shafiei@alzahra.ac.ir)

2. Corresponding author, Department of Biotechnology, Faculty of Biological Science, Alzahra University, Tehran, Iran. Email: [p.hanachi@alzahra.ac.ir](mailto:p.hanachi@alzahra.ac.ir)

3. Department of Theo. Physics and Nanophysic, Faculty of Physics, Alzahra University, Tehran, Iran. Email: [azshafie@gmail.com](mailto:azshafie@gmail.com)

4. School for Resource and Environmental Studies, Dalhousie University, Dalhousie, Canada. Email: [tonyrobertwalker@gmail.com](mailto:tonyrobertwalker@gmail.com)

### ARTICLE INFO

#### Article type:

Research Article

#### Article History:

Received: 20 July 2024

Revised: 29 August 2024

Accepted: 30 August 2024

Published online: 20 December 2024

#### Keywords:

Ammonium,  
Dairy industry wastewater,  
Wastewater treatment,  
Bioelectrochemical system,  
Phosphate,  
Reduction of COD.

### ABSTRACT

The rapid expansion of industries in urban areas has led to the pollution of surface waters such as rivers and lakes. Industrial wastewater introduces harmful pollutants like nitrogen and phosphorus into the environment, resulting in eutrophication and reduced water quality. Additionally, the increase in COD (Chemical Oxygen Demand) in industrial wastewater poses serious threats to the environment. Therefore, proper management and treatment of this wastewater to reduce nitrogen, phosphorus, and COD before discharge is essential to ensure environmental sustainability. This study examined a novel hybrid microalgae-bioelectrochemical system for the simultaneous treatment of industrial organic wastewater and the cultivation of the microalga *Chlorella vulgaris*. The results showed that COD removal in the anode and cathode chambers was 83.55% and 75.31%, respectively. Additionally, total Kjeldahl nitrogen concentrations in the anode and cathode chambers decreased by 69.76% and 63.91%, respectively. Ammonium concentrations also decreased by 89.11% and 99.9% in the anode and cathode chambers, respectively. In the cathode chamber, nitrate concentration decreased by 29.72%, while in the middle chamber, nitrate concentration increased. Phosphate levels also decreased by 52% and 68% in the anode and cathode chambers, respectively. This system effectively treated industrial wastewater and simultaneously produced microalgae biomass in a separate environment from the wastewater. This innovative approach can be used as a sustainable technology for industrial wastewater treatment and low-cost biomass production. However, further optimization of the treatment systems is necessary to enhance efficiency.

**Cite this article:** Shafiei Darabi, S.M., Hanachi, P., Shafie Khani, A., Robert Walker, T. (2024). Reduction of COD, Phosphorus, and Nitrogen in industrial wastewater through cultivation of *Chlorella vulgaris* in a bioelectrochemical system. *Journal of Fisheries*, 77 (4), 281-295. DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2024.379639.1438>



© The Author(s) **Publisher:** University of Tehran Press.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2024.379639.1438>



دانشگاه تهران

## کاهش COD، فسفر و نیتروژن پساب صنعتی با کشت ریز جلبک *Chlorella vulgaris* در یک سیستم زیست‌الکتروشیمیایی

سیده معصومه شفیعی‌دارابی<sup>۱</sup> | پریچهر حناچی<sup>۲\*</sup> | عزیز اله شفیعی‌خانی<sup>۳</sup> | تونی رابرت واکر<sup>۴</sup>

۱. گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران. رایانامه: [m.shafiei@alzahra.ac.ir](mailto:m.shafiei@alzahra.ac.ir)

۲. نویسنده مسئول، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران. رایانامه: [p.hanachi@alzahra.ac.ir](mailto:p.hanachi@alzahra.ac.ir)

۳. گروه فیزیک نظری و نانو، دانشکده فیزیک، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران. رایانامه: [azshafie@gmail.com](mailto:azshafie@gmail.com)

۴. دانشکده منابع و مطالعات محیطی، دانشگاه دالهاوزی، هالیفاکس، کانادا. رایانامه: [tonyrobertwalker@gmail.com](mailto:tonyrobertwalker@gmail.com)

### اطلاعات مقاله

### چکیده

#### نوع مقاله:

پژوهشی

#### تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۳۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۶/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۹

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۹/۳۰

#### کلیدواژه:

آمونیم،

پساب صنایع لبنی،

تصفیه پساب،

سیستم زیست‌الکتروشیمیایی،

فسفات،

کاهش COD.

گسترش سریع صنایع در مناطق شهری منجر به آلودگی آب‌های سطحی مانند رودخانه‌ها و دریاچه‌ها شده است. فاضلاب‌های صنعتی، آلاینده‌های مضر و همچنین نیتروژن و فسفر را به محیط‌زیست وارد می‌کنند که به خوراکوری یا یوتروفیکاسیون و کاهش کیفیت آب منجر می‌شود. علاوه بر این، افزایش COD (نیاز شیمیایی به اکسیژن) در فاضلاب‌های صنعتی می‌تواند تهدیدات جدی برای محیط‌زیست ایجاد کند. از این‌رو، مدیریت و تصفیه صحیح این فاضلاب‌ها برای کاهش نیتروژن، فسفر و COD پیش از تخلیه، ضروری است تا پایداری محیط‌زیست تضمین شود. این مطالعه یک سیستم هیبریدی نوین ریزجلبک زیست‌الکتروشیمیایی را برای تصفیه همزمان فاضلاب آلی صنعتی و کشت ریزجلبک *Chlorella vulgaris* مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد که حذف COD در محفظه‌های آند و کاتد به ترتیب ۸۳/۵۵ و ۷۵/۳۱ درصد بود. همچنین، غلظت نیتروژن کج‌لدا در محفظه‌های آند و کاتد به ترتیب ۶۹/۷۶ و ۶۳/۹۱ درصد کاهش یافت. غلظت آمونیم نیز در محفظه‌های آند و کاتد به ترتیب ۸۹/۱۱ و ۹۹/۹ درصد کاهش یافت. در محفظه کاتد، غلظت نترات به میزان ۲۹/۷۲ درصد کاهش نشان داد، در حالی که در محفظه میانی، غلظت نترات افزایش یافت. فسفات نیز در محفظه‌های آند و کاتد به ترتیب ۵۲ و ۶۸ درصد کاهش داشت. این سیستم توانست فاضلاب صنعتی را به‌طور کارآمد تصفیه کند و همزمان زیست‌توده ریزجلبکی را در محیطی جدا از پساب تولید کند. این روش نوآورانه می‌تواند به‌عنوان یک فناوری پایدار برای تصفیه فاضلاب‌های صنعتی و تولید زیست‌توده با هزینه کم استفاده شود. با این حال، بهینه‌سازی بیشتر سیستم‌های تصفیه برای افزایش کارایی ضروری است.

**استناد:** شفیعی‌دارابی، سیده معصومه؛ حناچی، پریچهر؛ شفیعی‌خانی، عزیز اله؛ رابرت واکر، تونی (۱۴۰۳). کاهش COD، فسفر و نیتروژن پساب صنعتی با کشت ریزجلبک

*Chlorella vulgaris* در یک سیستم زیست‌الکتروشیمیایی. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۷۷ (۴)، ۲۹۵-۲۸۱. DOI:

<http://doi.org/10.22059/jfisheries.2024.379639.1438>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2024.379639.1438>



## ۱. مقدمه

صنعتی سازی سریع و متمرکز در مناطق شهری فشار زیادی بر محیط زیست وارد کرده و منجر به آلودگی آب های سطحی مانند رودخانه ها و دریاچه ها شده است. پساب های صنعتی ناشی از فعالیت های فرآوری مواد خام و تولید محصولات، آلاینده های خطرناکی را به محیط زیست منتقل می کند (Gedda, 2021). ورود نیتروژن و فسفر از طریق رودخانه ها به اکوسیستم های ساحلی، به اصلی ترین عامل یوتروفیکاسیون و تخریب این اکوسیستم ها تبدیل شده است. یوتروفیکاسیون به افزایش مواد مغذی، به ویژه ترکیبات نیتروژن و فسفر، که منجر به رشد سریع جلبک ها و اختلال در توازن و کیفیت آب می شود، تعریف می شود (Chaitee, 2021). شاخص مهم دیگر در ارزیابی کیفیت فاضلاب صنعتی، COD (Chemical Oxygen Demand) است که میزان اکسیژن مورد نیاز برای اکسیداسیون شیمیایی مواد آلی را نشان می دهد و افزایش آن در پساب صنعتی می تواند تأثیرات منفی جدی بر محیط زیست داشته باشد. مدیریت و تصفیه صحیح فاضلاب صنعتی برای کاهش میزان نیتروژن، فسفر و COD قبل از تخلیه به محیط زیست ضروری است. استفاده از فناوری های پیشرفته تصفیه مانند اکسیداسیون پیشرفته و فرآیندهای زیستی می تواند به کاهش مؤثر این آلاینده ها کمک کند (Alipour, 2020). جلبک *Chlorella vulgaris* یک جلبک سبز تک سلولی با ویژگی ها و کاربردهای متعدد است که به عنوان مدل آزمایشی در مطالعات علمی و صنعتی مورد توجه قرار گرفته است. این ریزجلبک به عنوان منبع پروتئین غنی، ویتامین ها و مواد معدنی استفاده می شود و توانایی جذب مواد مغذی و فلزات سنگین را دارد، که آن را برای تصفیه پساب ها و فاضلاب ها مناسب می سازد. به دلیل تولید مقادیر بالای لیپیدها، کلرلا ولگاریس منبعی بالقوه برای تولید بیودیزل و سوخت های زیستی است و در داروسازی و تولید مکمل های غذایی نیز کاربرد دارد (Kothari, 2024). این جلبک با کارایی بالایی نیتروژن، فسفر، BOD و COD را حذف کرده و مواد مغذی و آلاینده ها را جذب و تجزیه می کند (Zhuang, 2020; Su, 2021). سرعت رشد بالا و تحمل شرایط محیطی مختلف، از جمله تغییرات pH و دما، از دیگر مزایای این جلبک است که آن را برای تصفیه پساب های صنعتی مناسب می سازد. کلرلا ولگاریس همچنین در فرآیند فتوسنتز، اکسیژن تولید می کند که به بهبود کیفیت آب و شرایط زیستی در محیط های آبی کمک می کند. این ویژگی ها، کلرلا ولگاریس را به ابزاری مؤثر و چندمنظوره برای تصفیه پساب های صنعتی و بهبود کیفیت محیط زیست تبدیل کرده است (Kothari, 2024).

سیستم های بیوالکتروشیمیایی (BES) به عنوان یک روش نوین برای تصفیه فاضلاب و تولید انرژی از فرآیندهای بیولوژیک و الکتروشیمیایی شناخته می شوند. این سیستم ها از میکروارگانیسم های الکتروژنیک برای تجزیه مواد آلی و تبدیل آنها به جریان الکتریکی استفاده می کنند و شامل اجزای اصلی مانند آند، کاتد، محفظه های آند و کاتد، غشای تبادل یونی، منبع تغذیه خارجی و میکروارگانیسم ها هستند (Clauwaert, 2008). انواع BES شامل پیل های سوختی میکروبی، سلول های الکترولیز میکروبی، سیستم های دنیتروفیکاسیون و سیستم های ترکیبی برای تصفیه مؤثرتر و تولید همزمان انرژی اند (Clauwaert, 2008). BES ها می توانند به طور کارآمد COD فسفر و نیتروژن را در پساب ها کاهش دهند. در این سیستم ها، میکروارگانیسم های الکتروژنیک در آند رشد کرده و مواد آلی را اکسید می کنند، در حالی که در کاتد، واکنش های کاهش انجام می شود. از مزایای BES می توان به مصرف کمتر انرژی نسبت به سیستم های متعارف، تولید همزمان انرژی الکتریکی و کارایی بالا در حذف مواد آلی، نیتروژن و فسفر اشاره کرد. تحقیقات نشان داده اند که ترکیب BES با میکروجلبک کلرلا ولگاریس می تواند به طور مؤثر آلاینده ها را از پساب های صنعتی حذف کند (Pan, 2021).

ترکیب سیستم های بیوالکتروشیمیایی (BES) با کلرلا ولگاریس می تواند کارایی تصفیه و تولید انرژی را بهبود بخشد. این ترکیب باعث بهره برداری از فرآیندهای الکتروشیمیایی شده و می تواند تا ۹۰ درصد COD و ۸۰ درصد نیتروژن را از پساب های صنعتی حذف کند. مطالعات اخیر بر بهبود کارایی و پایداری این سیستم ها که شامل بهینه سازی شرایط کشت، استفاده از مواد جدید برای الکترودها و بررسی ترکیب های مختلف میکروارگانیسم ها متمرکز شده اند. این تحقیقات نشان می دهند که سیستم های بیوالکتروشیمیایی و کلرلا ولگاریس می توانند به عنوان یک فناوری پایدار و کارآمد برای تصفیه پساب های صنعتی و تولید انرژی به کار روند (Hou, 2016; Elshobary, 2020).

هدف این مطالعه تصفیه پساب کارخانه لبنی از طریق پرورش ریزجلبک کلرلا ولگاریس در یک سیستم زیست‌الکتروشیمیایی سه محفظه‌ای است. در این سیستم، محل رشد ریزجلبک و پساب توسط غشاهای تبادل یونی از هم جدا شده‌اند. این روش نوین به‌طور قابل توجهی احتمال آلودگی زیست‌توده ریزجلبکی توسط آلاینده‌های موجود در پساب را کاهش می‌دهد، که این موضوع اهمیت ویژه‌ای در بهبود کیفیت و ایمنی زیست‌توده تولیدی دارد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که استفاده از این سیستم می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مؤثر و کاربردی در تصفیه پساب‌های صنعتی، به‌ویژه در صنایع لبنی، مورد استفاده قرار گیرد و به بهبود پایداری محیط‌زیست کمک کند.

با توجه به افزایش آلودگی‌های ناشی از فاضلاب صنعتی، به‌ویژه در صنایع لبنی، ضرورت یافتن روش‌های مؤثر و پایدار برای تصفیه این پساب‌ها بیشتر احساس می‌شود. این نوع فاضلاب‌ها حاوی مقادیر بالای مواد آلی و مغذی مانند نیتروژن و فسفر هستند که در صورت عدم تصفیه، می‌توانند به اکوسیستم‌های آبی آسیب برسانند. استفاده از ترکیب سیستم‌های بیوالکتروشیمیایی (BES) و ریزجلبک‌ها، به‌ویژه کلرلا ولگاریس، به‌عنوان رویکردی جدید برای کاهش آلاینده‌ها و تولید انرژی پاک، توجه بسیاری از محققان را جلب کرده است. در این پژوهش، به تصفیه پساب کارخانه لبنی با استفاده از سیستم زیست‌الکتروشیمیایی سه محفظه‌ای و بررسی امکان استفاده از کلرلا ولگاریس پرداخته شده است تا یک روش پایدار و کارآمد برای کاهش آلاینده‌های آلی و مغذی از پساب‌های صنعتی معرفی گردد. مطالعه حاضر می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مؤثر و نوین در تصفیه پساب‌های صنعتی و به‌ویژه در صنایع لبنی بکار گرفته شود و تأثیرات مثبتی بر محیط‌زیست و پایداری منابع آبی داشته باشد.

## ۲. روش‌شناسی پژوهش

### ۲-۱. تهیه و کشت ریزجلبک کلرلا ولگاریس

جلبک کلرلا ولگاریس با شماره دسترسی IBRC-M 50026 از مرکز ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شد. این جلبک‌ها در ارلن مایرهای ۵۰۰ میلی‌لیتری با محیط کشت پیشنهاد شده توسط سازمان همکاری و توسعه اقتصادی (OECD) براساس راهنمای شماره ۲۰۱ کشت داده شدند (OECD, 2011). محیط کشت شامل مقادیر مشخصی از درشت‌مغذی‌ها ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnCl}_2$ ), عناصر کمیاب ( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , آهن ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) و بی‌کربنات ( $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ) بود (OECD, 2011). جلبک‌ها در دمای اتاق با pH حدود ۷/۵ و تحت نور لامپ‌های فلورسنت سفید رشد داده شدند. هوادهی به‌طور مداوم با پمپ هوا انجام شد و برای جلوگیری از رسوب زیست‌توده میکروجلبک، از هیتر استیرر مدل MR Hei-Standard کمپانی Heidolph آلمان با سرعت چرخش ۵۰۰ RPM استفاده شد. میزان تراکم سلول‌های جلبکی با استفاده از دستگاه سنجنده خودکار سلولی (C10227, Thermo Fisher Scientific, South Korea) تعیین شد (Khoshnamvand et al., 2020 a,b).

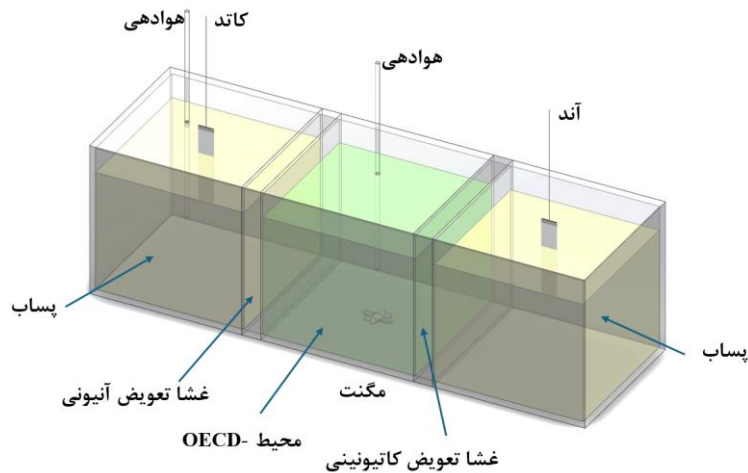
### ۲-۲. تهیه پساب

پساب مورد بررسی در این تحقیق به‌صورت دستی از استخر متعادل‌ساز تصفیه‌خانه شرکت صنایع شیر ایران (برند پگاه، واقع در تهران، کیلومتر ۴ بزرگراه فتح) جمع‌آوری شد. نمونه پساب با pH بین ۸ تا ۸/۵ و دمای محیط در بطری‌های دو لیتری استریل شده به‌وسیله اتوکلاو جمع‌آوری و بلافاصله به آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده علوم زیستی دانشگاه الزهرا منتقل شد. سپس، این پساب به محفظه‌های آند و کاتد سیستم زیست‌الکتروشیمیایی با ظرفیت ۹۰۰ میلی‌لیتر اضافه گردید.

### ۲-۳. تنظیم و ساخت سیستم زیست‌الکتروشیمیایی

برای گروه‌های تیماری، یک سیستم زیست‌الکتروشیمیایی سه‌محفظه‌ای از جنس پلکسی گلس (پلی‌متیل متاکریلات) طراحی و ساخته شد. هر محفظه دارای حجم کاری ۹۰۰ میلی‌لیتر (ابعاد  $10 \times 10 \times 10$  سانتی‌متر) بود. محفظه آند و محفظه میانی توسط غشای تبادل کاتیونی (DEZHion-CBL 200) و محفظه کاتد و محفظه میانی توسط غشای تبادل آنیونی (DEZHion-ABL) (200) از یکدیگر جدا شدند. این غشاهای شرکت آذرخش باتری ویرا در اصفهان تهیه شدند. در محفظه آند، یک قطعه گرافیتی

به ابعاد ۱×۵ سانتی متر قرار داده شد که قبل از استفاده به عنوان آند، برای تشکیل بیوفیلم الکتروفعال بالغ با پساب پیش غنی شده بود (Liu, 2010). برای الکتروکاتد، از یک قطعه تیتانیوم به ابعاد ۱×۵ سانتی متر استفاده شد. هوادهی مداوم با استفاده از پمپ هوای آکوا مدل AP-310 (۳ وات، ۳ لیتر در دقیقه) به عنوان پذیرنده الکترون در کاتد فراهم شد. در محفظه میانی، از محیط کشت OECD بدون ترکیبات نیتروژن دار ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ )، فسفردار ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) و کربن دار ( $\text{NaHCO}_3$ ) برای رشد ریزجلبک کلرلا ولگاریس استفاده گردید. این محیط OECD- نامگذاری شد. برای بررسی تأثیر شدت جریان الکتریکی بر رشد میکروجلبک و مهاجرت بسترها، سیستم به عنوان سلول الکترولیز میکروبی (MEC) آماده شد. در حالت MEC، دو الکتروکاتد به صورت سری به یک منبع تغذیه (PHYWE, Stelltrafo mit Gleichrichter) با ولتاژ ثابت ۵ ولت متصل شدند (شکل ۱).

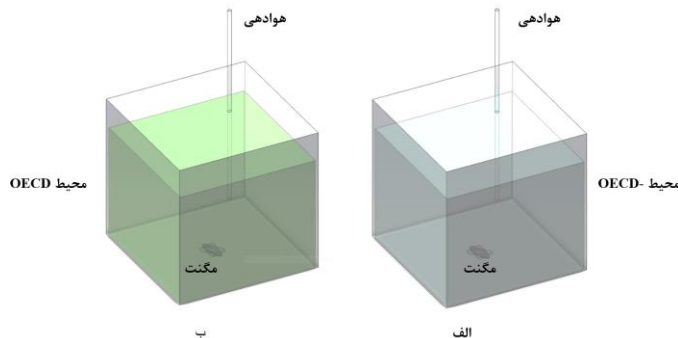


شکل ۱- تصویری شماتیک از سیستم زیست‌الکتروشیمیایی سه محفظه‌ای (محفظه‌های دو طرف: حاوی پساب و الکتروکاتد، محفظه میانی: محل محیط کشت OECD و رشد ریزجلبک)

## ۲-۴. تهیه پساب

برای کنترل رشد ریزجلبک‌ها (که به عنوان کنترل زیست‌توده شناخته می‌شود)، محفظه‌های تکی از همان جنس پلکسی گلس با ابعاد ۱۰×۱۰×۱۰ سانتی متر و حجم کاری ۹۰۰ میلی لیتر ساخته شد. در این محفظه‌های تکی، از محیط OECD- به عنوان کنترل منفی جهت بررسی رشد زیست‌توده استفاده شد، در حالی که یک محفظه تکی دیگر با استفاده از محیط OECD استاندارد به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد (شکل ۲).

ریزجلبک کلرلا ولگاریس پیش از تلقیح به گروه‌های کنترلی و محفظه میانی سیستم زیست‌الکتروشیمی، در محیط استاندارد OECD پیش کشت داده شد تا به فاز نمایی برسد. سپس، گروه‌های کنترلی و محفظه میانی با کلرلا ولگاریس تلقیح شدند تا به تعداد اولیه  $10^5 \times 0.26$  سلول/میلی لیتر برسند. پساب تهیه شده از کارخانه پگاه به محفظه‌های کناری حاوی الکتروکاتد اضافه شد. اگر pH پساب تهیه شده از کارخانه کمتر یا بیشتر از ۷ بود، با استفاده از HCl و NaOH به ۷ تنظیم شد. در نهایت، حجم کاری تمام محفظه‌ها ۹۰۰ میلی لیتر بوده است و آزمایش به مدت ۱۴ روز اجرا شد.



شکل ۲- تصویری شماتیک از محفظه‌های (الف): کنترل منفی زیست‌توده حاوی محیط کشت OECD- و (ب): محفظه کنترل مثبت زیست‌توده حاوی OECD استاندارد

## ۲-۵. بررسی میزان COD

در این مرحله، نیاز شیمیایی به اکسیژن (COD) هر چهار روز یکبار اندازه‌گیری شد. برای تعیین میزان COD از کیت شرکت به آزما شیمی پژوهش پارس استفاده گردید. ابتدا غلظت‌های مورد نیاز محلول پتاسیم هیدروژن فتالات برای رسم نمودار استاندارد تهیه شد. سپس، مقدار مشخصی از نمونه‌های استاندارد و نمونه مجهول به ویال‌ها اضافه شده و ویال‌ها به مدت دو ساعت در دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه COD راکتور قرار گرفتند. پس از اتمام زمان، ویال‌ها خارج و در مکانی ثابت قرار داده شدند تا ته‌نشین و خنک شوند. در نهایت، جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری و غلظت COD نمونه‌ها با استفاده از نمودار استاندارد محاسبه شد.

## ۲-۶. بررسی میزان نیتروژن به روش کج‌دال

برای اندازه‌گیری میزان نیتروژن کل در روزهای ۰ و ۱۴ از روش کج‌دال استفاده شد. این روش یک روش استاندارد و متداول برای سنجش مقدار نیتروژن در نمونه‌های زیستی و غذایی است. روش کج‌دال شامل سه مرحله اصلی است: هضم، تقطیر، و تیتراسیون. مقدار نیتروژن براساس حجم اسید مصرف شده در مرحله تیتراسیون محاسبه می‌شود. به‌طور کلی، حجم اسید مصرفی به‌ازای هر میلی‌لیتر معرف استاندارد، معادل مقدار نیتروژن موجود در نمونه است (Sáez-Plaza, 2013).

## ۲-۷. تعیین مقدار آمونیاک

میزان آمونیاک در سیستم هر چهار روز یکبار با استفاده از کیت سنجش آمونیاک شرکت شیمی صنعت واهب و به روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد. در این کیت، از روش نسلر برای اندازه‌گیری آمونیوم محلول در آب استفاده گردید که یکی از روش‌های متداول برای سنجش آمونیاک در آب است (Martínez, 1998).

## ۲-۸. تعیین میزان نیترات

میزان نیترات موجود در نمونه‌های این تحقیق در روزهای ۰ و ۱۴ با استفاده از کیت سنجش نیترات شرکت شیمی صنعت واهب و به روش رنگ‌سنجی به‌دست آمد. این روش مبتنی بر ایجاد یک واکنش شیمیایی است که در آن نیترات موجود در نمونه، با معرف‌های شیمیایی واکنش داده و ترکیب زرد رنگ ایجاد می‌کند. شدت رنگ زرد متناسب با غلظت نیترات در نمونه است و از طریق مقایسه با نمونه‌های استاندارد، مقدار نیترات اندازه‌گیری می‌شود. در این آزمایش، نمونه پساب ابتدا در بشر شیشه‌ای قرار داده و تبخیر شد تا به‌طور کامل خشک شود. سپس، معرف‌های شیمیایی به نمونه اضافه شدند و با آب مقطر مخلوط گردید. در ادامه، محلول قلیایی شد تا رنگ زردی که نشان‌دهنده حضور نیترات است، ایجاد شود. در نهایت، مقدار نیترات موجود در نمونه از طریق مقایسه رنگ زرد ایجاد شده با نمونه‌های استاندارد تعیین شد.

## ۲-۹. تعیین مقدار فسفات

برای اندازه‌گیری میزان فسفات در نمونه‌های آزمایش، از کیت سنجش فسفات شرکت شیمی صنعت واهب استفاده شده است. این کیت در دو مدل برای سنجش ارتوفسفات محلول در آب طراحی شده است: مدل رنج پایین (آبی مولیبدو فسفونیک) و مدل رنج بالا (مولیبدات وانا دات). در مدل رنج پایین، فسفات با مولیبدات آمونیوم در محیط اسیدی واکنش داده و کمپلکس مولیبدوفسفریک اسید تشکیل می‌شود که با حضور ماده کاهنده به ترکیب آبی رنگ تبدیل می‌گردد، این روش برای اندازه‌گیری فسفات در مقادیر پایین (میکروگرم در لیتر) مناسب است. در مدل رنج بالا، فسفات با مولیبدات آمونیوم و وانا دات واکنش داده و کمپلکس زرد رنگی تشکیل می‌شود که برای مقادیر بالاتر (میلی‌گرم در لیتر) استفاده می‌شود (Tandon, 1968). تغییر رنگ در هر دو روش با چارت رنگی یا اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری می‌شود تا غلظت فسفات تعیین گردد. نمونه‌برداری و اندازه‌گیری فسفات هر چهار روز انجام شده و نتایج با استفاده از استانداردهای رنگ‌سنجی ثبت شده‌اند.

## ۲-۱۰. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای تحلیل داده‌های مرتبط با میزان رشد ریزجلبک کلرلا ولگاریس از ترکیبی از آزمون من-کندال، شیب سن (Sen Slope) و رگرسیون غیرخطی استفاده شده است. در بررسی داده‌های مرتبط با حذف COD و مهاجرت مواد آلی و همچنین میزان حذف و

بازیابی فسفر از روش رگرسیون خطی و بررسی میزان دقت رگرسیون با استفاده از شاخص ضریب تشخیص ( $R^2$ ) استفاده شد. با توجه به متفاوت بودن تغییرات در محفظه‌های مختلف در روند بررسی میزان آمونیموم از دو رگرسیون خطی و غیرخطی استفاده شد تا مقدار ضریب تشخیص در هر سه محفظه مقدار قابل قبولی (ترجیحاً بیشتر از ۰/۹) باشد. و در نهایت برای بررسی حذف و بازیابی نیتروژن کج‌دال و نیترات، معنی‌داری میزان تغییرات هر کدام در محفظه‌های مختلف با استفاده از آزمون t مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام تمامی تحلیل‌های آماری ذکرشده، از نرم‌افزار Origin Pro نسخه ۲۰۲۱ استفاده شد. نمودارها نیز با استفاده از همین نرم‌افزار ترسیم شدند و نتایج به صورت میانگین به همراه خطای استاندارد ( $SE \pm Mean$ ) ارائه شدند.

## ۲-۱۱. ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این مطالعه در تاریخ ۱۴۰۱/۰۸/۱۱ با شناسه IR.ALZAHRA.REC.1401.103 توسط کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه الزهرا به تصویب رسیده است.

## ۳. یافته‌های پژوهش

### ۳-۱. بررسی رشد ریزجلبک کلرلا ولگاریس

در این مرحله، رشد سلول‌های ریزجلبک کلرلا ولگاریس در محفظه میانی سیستم زیست‌الکتروشیمیایی (حاوی محیط OECD)، محفظه کنترل مثبت (حاوی محیط استاندارد OECD) و محفظه کنترل منفی (حاوی محیط OECD) از دو جنبه مورد بررسی آماری قرار گرفت. نخست، معنی‌داری رشد کلرلا ولگاریس در هر محفظه به طور مستقل ارزیابی شد، و سپس رشد کلرلا ولگاریس در محفظه‌های مختلف نسبت به یکدیگر مقایسه گردید.

تحلیل الگوی رشد در محفظه کنترل مثبت نشان داد که مجموعه داده‌ها از یک روند نمایی کشیده پیروی می‌کنند. تعداد سلول کلرلا ولگاریس در طول زمان در این محفظه ابتدا یک مرحله رشد آهسته را نشان داد، سپس با افزایش سریع همراه بود و در نهایت به یک حالت پایدار نزدیک شد و با مدل نمایی کشیده سازگار بود. شاخص‌هایی که از رگرسیون تابع نمایی کشیده به داده‌ها به دست آمدند، با مقدار ضریب تشخیص ( $R^2$ ) برابر با ۰/۹۹۶۳ نشان‌دهنده رگرسیون بسیار خوب بود. این موضوع نشان

می‌دهد که مدل نمایی کشیده به طور دقیق دینامیک‌های رشد در محفظه میانی را به تصویر می‌کشد و رفتار مورد انتظار از انتقال تدریجی از رشد آهسته به گسترش سریع قبل از پایداری را تأیید می‌کند. همچنین در محفظه کنترل مثبت، یک روند افزایشی معنی‌دار آماری با شیب سن برابر با  $0.9975 \times 10^5$  سلول/میلی‌لیتر در روز مشاهده شد. این نشان‌دهنده رشد قوی کلرلا ولگاریس در طول دوره است. غلظت از  $0.26 \times 10^5$  سلول/میلی‌لیتر در روز اول به  $13.29 \times 10^5$  سلول/میلی‌لیتر در روز چهاردهم افزایش یافت، که نشان‌دهنده افزایش ۵۰-۱۵ درصدی در طول دوره است (شکل ۳).

به طور مشابه، مجموعه داده‌های محفظه میانی نیز از یک روند نمایی کشیده پیروی می‌کنند. تعداد سلول کلرلا ولگاریس در طول زمان در این محفظه ابتدا یک مرحله رشد آهسته را نشان داد، سپس با افزایش سریع همراه بود و در نهایت به یک حالت پایدار نزدیک شد که با مدل نمایی کشیده سازگار است. مقدار ضریب تشخیص ( $R^2$ ) در این محفظه نیز برابر با ۰/۹۹۶۱ است. میزان رشد سلولی کلرلا ولگاریس در محفظه میانی نیز یک روند افزایشی معنی‌دار با شیب سن برابر با  $0.9464 \times 10^5$  سلول/میلی‌لیتر در روز را نشان داد. رشد ریزجلبک در این محفظه به طور قابل توجهی از  $0.26 \times 10^5$  سلول/میلی‌لیتر در روز اول به  $13.2718 \times 10^5$  سلول/میلی‌لیتر در روز چهاردهم افزایش یافت، که افزایش حدود ۵۰ درصدی را نشان می‌دهد (شکل ۳).

تابع نمایی کشیده استفاده شده در این تحلیل برای رگرسیون بر روی داده‌ها به صورت زیر می‌باشد:

$$y = a \cdot \exp\left(-\left(\frac{x}{b}\right)^c\right)$$

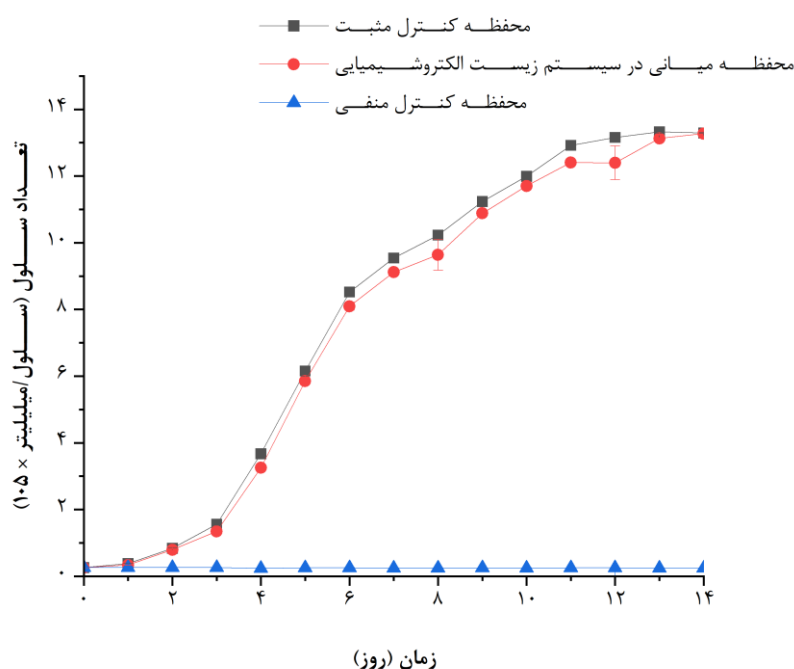
که مقادیر پارامترهای a، b و c برای محفظه‌های کنترل مثبت و میانی در جدول ۱ ارائه شده است. در مقابل، محفظه کنترل منفی نشان‌دهنده روند معنی‌داری نبود. آزمون من-کندال هیچ تغییر معنی‌داری نشان نداد و شیب سن محاسبه شده برابر با  $-0.011 \times 10^5$  سلول/میلی‌لیتر در روز بود، که نشان‌دهنده کاهش بسیار جزئی و عملاً ناچیز است. رشد

ریزجلبک در این محفظه نسبتاً ثابت باقی ماند، از  $۰/۲۶۳۳ \times ۱۰^۵$  سلول/میلی لیتر در روز اول تا  $۰/۲۴۴۳ \times ۱۰^۵$  سلول/میلی لیتر در روز چهاردهم، که نقش این محفظه به عنوان کنترل منفی را تأیید می کند (شکل ۳).

**جدول ۱-** مقدار شاخص های رگرسیون نمایی کشیده بر داده های میزان رشد سلول های ریزجلبک کلرلا و لگاریس در محفظه های میانی و کنترل مثبت

پارامتر	محفظة کنترل مثبت	محفظة میانی
a	۱۵/۷۰۶۴	۱۵/۶۳۳۰
b	۴/۷۸۴۸	۴/۹۷۷۴
c	-۱/۷۹۸۳	-۱/۷۵۳۴
ضریب تشخیص ( $R^2$ )	۰/۹۹۶۳	۰/۹۹۶۱

با استفاده از تحلیل همبستگی پیرسون مشخص شد که یک رابطه قوی بین میزان رشد تعداد سلول کلرلا و لگاریس در طول زمان در محفظه های کنترل مثبت و میانی وجود دارد، در حالی که رابطه محفظه کنترل منفی با دو محفظه دیگر ناچیز است. ضریب همبستگی بین محفظه های کنترل مثبت و میانی بسیار بالا و برابر با  $۰/۹۹۹$  بود که نشان دهنده یک روند تقریباً یکسان بین این دو محفظه است. در مقابل، ضریب همبستگی بین محفظه های کنترل مثبت و منفی برابر با  $-۰/۶۸۹$  و بین محفظه های کنترل منفی و میانی برابر با  $-۰/۶۸۴$  بود که هر دو نشان دهنده یک همبستگی منفی متوسط هستند. این مقادیر آماری نشان می دهد که محفظه های کنترل مثبت و میانی به شدت به هم مرتبط هستند، ولی محفظه کنترل منفی مستقل است و رابطه ناچیزی با دو محفظه دیگر دارد.



**شکل ۳-** نمودار رشد میکرو جلبک کلرلا و لگاریس براساس تعداد سلول در سه حالت کشت در محفظه تکی حاوی محیط  $OECD^+$  به عنوان نمونه کنترل مثبت، کشت در محفظه میانی سیستم زیست الکتروشیمیایی حاوی محیط  $OECD^-$ ، کشت در محفظه تکی حاوی محیط  $OECD^-$  به عنوان نمونه کنترل منفی

### ۳-۲. حذف COD و مهاجرت مواد آلی

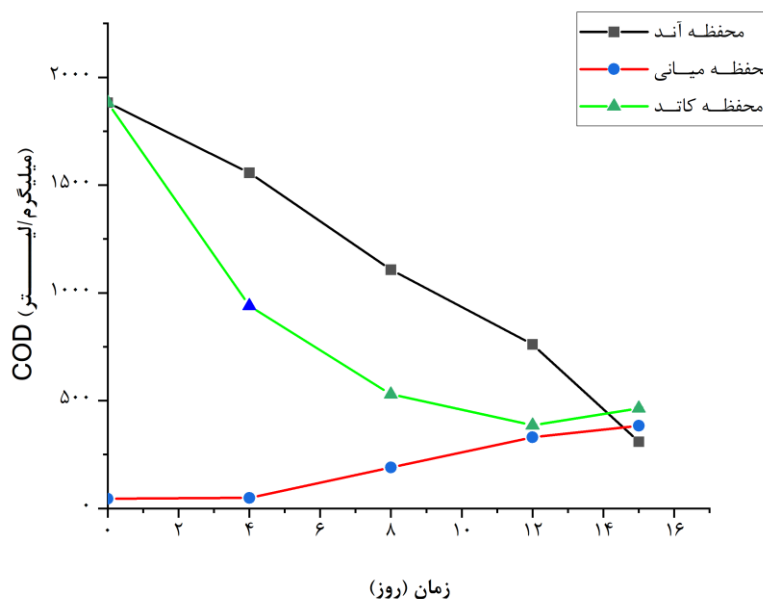
براساس داده ها، مقدار COD در محفظه های آند و کاتد با گذشت زمان کاهش نشان می دهد. در محفظه آند، مقدار COD از  $۱۸۸۲/۳۳$  میلی گرم در لیتر در روز صفر به  $۳۰۹/۶۶$  میلی گرم در لیتر در روز ۱۴ کاهش یافت که معادل کاهش حدود  $۸۳/۵۵$  درصدی است. در محفظه کاتد نیز، مقدار COD از  $۱۸۸۲/۳۳$  میلی گرم در لیتر در روز صفر به  $۴۶۴/۶۶$  میلی گرم در لیتر در روز ۱۴ کاهش یافت و کاهش حدود  $۷۵/۳۱$  درصدی را نشان می دهد. این کاهش ها بیانگر کاهش آلودگی یا مواد آلی در این نواحی با گذشت زمان است. در مقابل، در محفظه میانی، مقدار COD از  $۴۵/۵$  میلی گرم در لیتر در روز صفر به  $۳۸۳/۳۳$  میلی گرم در لیتر در روز ۱۴ افزایش یافت (شکل ۴). همچنین تغییرات مقدار COD در طول زمان در محفظه های مختلف را می توان از ریق



رگرسیون تابع خطی روی داده‌ها مورد بررسی قرار داد. مقدار شیب، عرض از مبدا و ضریب تشخیص توابع رگرسیون برای هر سه محفظه در جدول ۲ به تفصیل ارائه شده است.

جدول ۲- مقادیر شاخص های رگرسیون خطی بر داده‌های میزان حذف COD و مهاجرت مواد آلی در محفظه‌های آند، کاتد و میانی

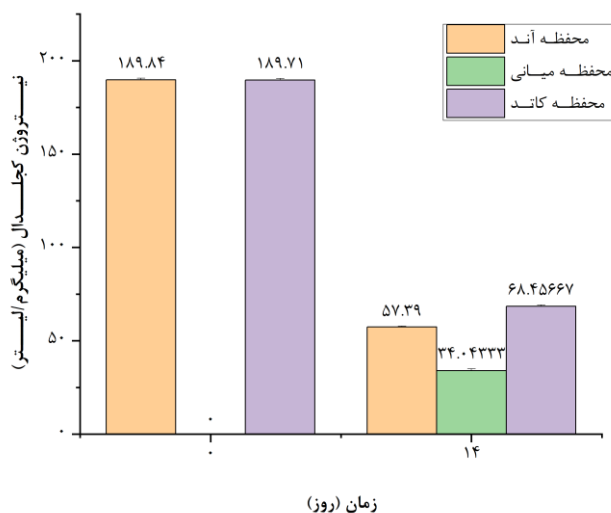
پارامتر	محفظة آند	محفظة میانی	محفظة کاتد
شیب	-۱۰۳/۲۶	۲۵/۱۵	-۹۱/۰۲
عرض از مبدا	۱۹۳۹/۰۶	۳/۳۴	۱۵۵۰/۳۹
ضریب تشخیص ( $R^2$ )	۰/۹۹۱	۰/۹۴۲	۰/۷۷۹



شکل ۴- نمودار حذف و یا مهاجرت COD در محفظه‌های آند، میانی و کاتد در سیستم زیست‌الکتروشیمیایی

### ۳-۳. حذف و بازیابی نیتروژن

نتایج نشان داد که غلظت نیتروژن کج‌لدا در محفظه‌های آند و کاتد کاهش یافته است. در محفظه آند، غلظت نیتروژن کل از ۱۸۹/۸۴ میلی‌گرم در لیتر در روز صفر به ۵۷/۳۹ میلی‌گرم در لیتر در روز ۱۴ کاهش یافت، که معادل کاهش حدود ۶۹/۷۶ درصدی است. همچنین، در محفظه کاتد، غلظت نیتروژن کل از ۱۸۹/۷۱ میلی‌گرم در لیتر در روز صفر به ۶۸/۴۵ میلی‌گرم در لیتر در روز ۱۴ کاهش یافت، که معادل کاهش حدود ۶۳/۹۱ درصدی است. از سوی دیگر، غلظت نیتروژن کل در محفظه میانی افزایش یافت؛ در روز صفر، غلظت نیتروژن کل در این محفظه برابر صفر بود و در روز ۱۴ به ۳۴/۰۴ میلی‌گرم در لیتر رسید. روند تغییرات میزان نیتروژن کل در محفظه‌ها با استفاده از آزمون t مورد تحلیل قرار گرفت. مقایسه غلظت‌ها بین روز اول و روز چهاردهم نشان داد که در محفظه آند کاهش قابل توجهی در غلظت نیتروژن وجود دارد ( $P < 0.005$ )، که به کاهش چشمگیر نیتروژن در طول زمان اشاره دارد. در مقابل، محفظه میانی افزایش معنی‌داری در غلظت نیتروژن نشان داد ( $P < 0.005$ )، در حالی که محفظه کاتد نیز کاهش معنی‌داری را داشت ( $P < 0.005$ ). این نتایج نشان‌دهنده کاهش قابل توجه غلظت نیتروژن در محفظه‌های آند و کاتد و افزایش قابل توجه آن در محفظه میانی است (شکل ۵).



شکل ۵- نمودار حذف و بازیافت نیتروژن به روش کلجدال در روزهای ۰ و ۱۴ در محفظه‌های آند، میانی و کاتد در سیستم زیست‌الکتروشیمیایی

### ۳-۴. تعیین مقدار آمونیوم

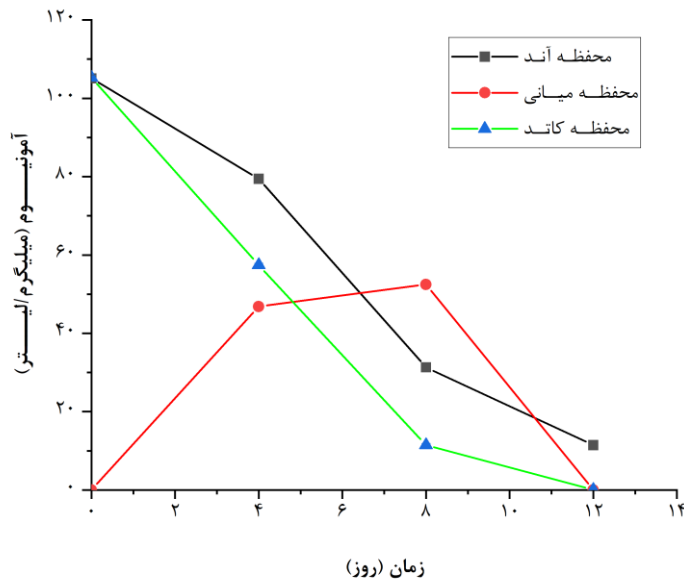
غلظت آمونیوم در محفظش آند از ۱۰۵/۲۷ به ۱۱/۴۴ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت، یعنی حدود ۸۹/۱۱ درصد کاهش داشت. در محفظه کاتد، غلظت آمونیوم از ۱۰۵/۲۷ به ۰/۰۴۱ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت، که معادل کاهش ۹۹/۹ درصدی است. در محفظش میانی، غلظت آمونیوم ابتدا از صفر به ۵۲/۴۷ میلی‌گرم در لیتر افزایش یافت و سپس تقریباً به صفر رسید. محفظه‌های آند و کاتد قابل تحلیل با یک روند خطی معنی‌دار بودند، در حالی که محفظه میانی نشان‌دهنده یک روند غیرخطی معنی‌دار در غلظت آمونیوم بود؛ این روند ابتدا افزایشی و سپس کاهش‌ی با گذشت زمان کاهش‌ی بود. این تحلیل‌ها رفتارهای پیش‌بینی‌شده غلظت آمونیوم را در محفظه‌های مختلف سیستم زیست‌الکتروشیمیایی تأیید کردند (شکل ۶) (جدول‌های ۳ و ۴).

جدول ۳- مقدار جدول تحلیل آماری تغییرات میزان آمونیوم در محفظه‌های آند و کاتد

پارامتر	محفظه آند	محفظه کاتد
شیب	-۸,۲۲۶	-۹/۰۴۲
عرض از مبدا	۱۰۶/۱۷۸	۹۷/۷۹۶
ضریب تشخیص ( $R^2$ )	۰/۹۷۵	۰/۹۴۴

جدول ۴- مقدار جدول تحلیل آماری تغییرات میزان آمونیوم در محفظه میانی

پارامتر	محفظه میانی
تابع رگرسیون	$y = ax^2 + bx + c$
$a$	-۱/۵۵۱
$b$	۱۸/۷۵۷
$c$	-۰/۸۴۴
ضریب تشخیص ( $R^2$ )	۰/۹۹۴

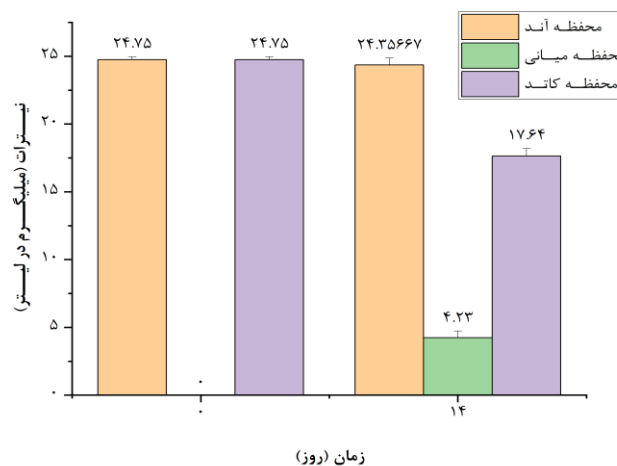


شکل ۶- نمودار حذف و یا مهاجرت آمونیوم در محفظه‌های آند، میانی و کاتد در سیستم زیست‌الکتروشیمیایی

### ۳-۵. تعیین مقدار نیترات

مقدار نیترات در محفظه‌ها در آغاز و پایان راه‌اندازی سیستم زیست‌الکتروشیمیایی اندازه‌گیری شد. در محفظه آند، غلظت نیترات از ۲۴/۷۵ میلی‌گرم در لیتر به ۲۴/۳۵ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت، که تقریباً ۱/۶ درصد کاهش داشت و این تغییر جزئی و ناچیز محسوب می‌شود. در محفظه میانی، غلظت نیترات از صفر میلی‌گرم در لیتر به ۴/۲۳ میلی‌گرم در لیتر افزایش یافت، که نشان‌دهنده افزایش قابل توجه نیترات در این محفظه است. در محفظه کاتد، غلظت نیترات از ۲۴/۷۵ میلی‌گرم در لیتر به ۱۷/۶۴ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت، که معادل کاهش ۲۹/۷۲ درصدی نیترات در این محفظه است (شکل ۷).

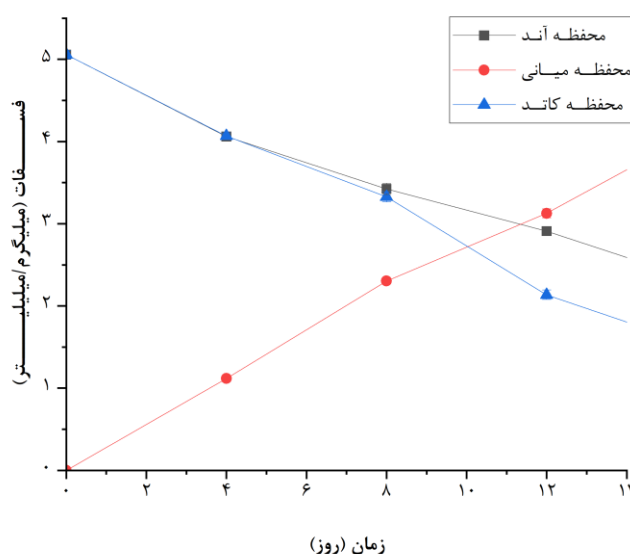
معنی‌داری روند افزایش یا کاهش غلظت نیترات در محفظه‌ها با استفاده از آزمون t مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه غلظت‌ها در روز اول و روز چهاردهم نشان داد که محفظه آند تغییر معنی‌داری در سطح نیترات نداشته است ( $P > 0.05$ )، که به پایداری نسبی غلظت در طول زمان اشاره دارد. در مقابل، محفظه میانی افزایش معنی‌داری در غلظت نیترات نشان داد ( $P < 0.05$ )، در حالی که محفظه کاتد کاهش معنی‌داری را تجربه کرد ( $P < 0.05$ ). این نتایج نشان می‌دهد که دینامیک نیترات در محفظه‌های میانی و کاتد تغییرات قابل توجهی داشته و هر یک روند متفاوتی را نشان دادند.



شکل ۷- نمودار حذف و یا مهاجرت نیترات در روزهای ۰ و ۱۴ در محفظه‌های آند، میانی و کاتد در سیستم زیست‌الکتروشیمیایی

### ۳-۶. حذف و بازیابی فسفر

طی اندازه‌گیری میزان فسفات در محفظه آند، روند کاهشی فسفات مشاهده شد، به طوری که از مقدار اولیه ۵/۰۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ۲/۴۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در روز ۱۴ کاهش یافت. این کاهش حدود ۵۲ درصد است. در مقابل، در محفظه کاتد، روند کاهش فسفات بسیار سریع‌تر بود. مقدار فسفات از ۵/۰۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ۱/۶۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در روز ۱۴ کاهش یافت که معادل کاهش تقریباً ۶۸ درصدی است. این نشان می‌دهد که سرعت کاهش فسفات در محفظه کاتد تقریباً ۱/۳ برابر بیشتر از محفظه آند است. بنابراین، اگرچه هر دو محفظه آند و کاتد روند کاهش فسفات را تجربه می‌کنند، اما سرعت کاهش در محفظه کاتد به‌طور قابل‌توجهی بیشتر است (شکل ۸). تغییرات مقدار فسفات در طول زمان در محفظه‌های مختلف را می‌توان با استفاده از رگرسیون خطی روی داده‌ها تحلیل کرد. در جدول ۵، جزئیات مربوط به مقدار شیب، عرض از مبدأ، و ضریب تعیین توابع رگرسیون برای هر یک از محفظه‌ها به تفصیل ارائه شده است (جدول ۵).



شکل ۸- نمودار حذف فسفات در محفظه‌های آند، میانی و کاتد سیستم زیست‌الکتروشیمیایی

جدول ۵- مقدار شاخص‌های رگرسیون خطی بر داده‌های میزان حذف و بازیابی فسفات در محفظه‌های آند، کاتد و میانی

پارامتر	محفظه آند	محفظه میانی	محفظه کاتد
شیب	-۰/۱۶۹	۰/۲۵۹	-۰/۲۳۱
عرض از مبدأ	۴/۸۹۴	۰/۰۶۹	۵/۰۴۸
ضریب تشخیص ( $R^2$ )	۰/۹۸۳	۰/۹۹۶	۰/۹۹۵

### ۴. بحث و نتیجه‌گیری‌هایی

بهبود حذف COD در محفظه‌های آند و کاتد احتمالاً به دلیل انتقال الکترون‌ها بین باکتری‌ها و الکترودها رخ داده است. در محفظه آند، دو گروه باکتری، یعنی باکتری‌های الکتروفعال و باکتری‌های تخمیر بی‌هوازی، عمدتاً از طریق فعالیت تنفسی به کاهش COD کمک می‌کنند. مطالعه‌ای که در شرایط مشابه با فاضلاب سیب‌زمینی انجام شد، نشان داد که گروه‌های میکروارگانیسم غالب در آند شامل *Proteobacteria* هستند (Li, 2014). در این میان، اگزوالکتروژن‌ها، که میکروبهایی با قابلیت انتقال الکترون خارج سلولی هستند و شامل گونه‌هایی مانند *Geobacter* و *Clostridium butyricum* *metallireducens* می‌شوند، می‌توانند در طی تنفس بی‌هوازی خود مواد آلی را به صورت بیولوژیکی اکسید کرده و COD را کاهش دهند و الکترون‌ها را به الکتروده منتقل کنند (Logan, 2009). تشکیل بیوفیلم (اگزوالکتروژن‌ها و باکتری‌های تخمیرکننده) روی آند، برای این فرآیند زیست‌الکتروشیمیایی در محفظه آند ضروری است و نقش اصلی را ایفا می‌کند

(Baranitharan, 2015). همچنین، سایر باکتری‌های تخمیرکننده بی‌هوازی مانند *Bacteroides* می‌توانند از طریق فرآیند تخمیر، COD را در آند کاهش دهند (Jia, 2013). رقابتی بر سر بستر بین اگزوالکتروژن‌ها و سایر میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کننده بی‌هوازی وجود دارد، بنابراین حذف COD در محفظه آند به فرآیندهای پیچیده‌ای که توسط هر دو گروه میکروب‌ها انجام می‌شود، نسبت داده می‌شود (Zhang, 2015). همچنین، مشاهده شد که پس از ۱۴ روز مقداری COD در محفظه آند باقی ماند، که نشان‌دهنده وجود مواد آلی غیرقابل تجزیه زیستی در فاضلاب تحت شرایط عملیاتی است. در محفظه کاتد، به دلیل وقوع فرآیندهای مختلف، از جمله فعالیت‌های میکروارگانیسم‌ها و مهاجرت اسیدهای کربوکسیلیک، کاهش سریع‌تر COD در روزهای اولیه مشاهده شد. هوادهی مداوم در محفظه کاتد نیز باعث تقویت فعالیت باکتری‌های هوازی و در نتیجه کاهش بیشتر COD شد (Zhang, 2015).

با کاهش COD در محفظه کاتد، COD در محفظه میانی افزایش یافت، که نشان‌دهنده مهاجرت مواد آلی از محفظه کاتد به محفظه میانی از طریق AEM است. بخشی از این مواد آلی مهاجرت کرده می‌تواند به‌عنوان منبع کربن آلی برای تقویت رشد میکسوتروفیک کلرلا و لگاریس عمل کند. برای ریزجلبک‌ها، رشد اتوتروفیک به‌شدت به نور وابسته است و اثر سایه ناشی از افزایش تراکم ریزجلبک‌ها می‌تواند رشد بیشتر را محدود کند. در این مطالعه، منبع کربن آلی به حمایت از رشد میکسوتروفیک کلرلا و لگاریس کمک کرد و ممکن است محدودیت رشد ناشی از اثر سایه را در کشت‌های مقیاس بزرگ کاهش داده باشد (Carvalho, 2011).

ترکیبات نیتروژنی اصلی در فاضلاب صنایع لبنی بیشتر به‌صورت آمونیوم و پروتئین وجود دارند. بنابراین، تغییرات آمونیوم و نیتروژن کل کج‌دال در هر سه محفظه سیستم زیست‌الکتروشیمیایی بررسی شد (Zhang, 2019). در محفظه‌های آند و کاتد، غلظت آمونیوم کاهش یافت، در حالی که در محفظه میانی غلظت آن افزایش پیدا کرد.

این احتمال وجود دارد که یک تعادل دینامیکی بین حذف و تشکیل آمونیوم برقرار باشد. هضم و هیدرولیز پروتئین در محفظه آند ممکن است به افزایش غلظت آمونیوم منجر شود. مطالعات نشان داده‌اند که فرآیندهای بی‌هوازی (در محفظه آند) به‌ندرت در حذف آمونیوم مؤثرند (Pan, 2021). در محفظه آند، حذف آمونیوم و به‌طور مشابه، به صورت حذف نیتروژن گازی مشاهده شد. در همین حال، در محفظه میانی، تغییرات متغیر غلظت آمونیوم با مهاجرت از محفظه آند مشاهده شد. در واقع، با توجه به بازیابی دینامیکی توسط ریزجلبک‌ها، احتمالاً مقدار بیشتری آمونیوم نسبت به مقداری که شناسایی شده است، به محفظه میانی منتقل شده باشد. علاوه بر این، رشد ریزجلبک‌ها با مصرف کربن غیرآلی از طریق فتوسنتز در محفظه میانی باعث افزایش سریع pH (بین ۹ تا ۱۱) شد، که در این حالت با تبدیل به گاز آمونیاک، منجر به فرار آمونیاک از مخزن گردید (Besson, 2013).

در محفظه کاتد، با هوادهی، افزایش کارایی حذف نیتروژن به‌صورت آمونیوم و نیتروژن کل گازی مشاهده شد. مهاجرت آمونیوم بین محفظه کاتد و محفظه میانی از طریق غشای تعویض آنیونی محدود شد. بنابراین، تحت شرایط هوادهی محفظه کاتد، آمونیاک احتمالاً از طریق نیتریفیکاسیون یا فرار به صورت گاز آمونیاک حذف شده است (Tao, 2014). همچنین، در محفظه کاتد کاهش غلظت نیترات مشاهده شد و در عین حال، مقدار کمی نیترات به محفظه میانی مهاجرت کرد. این امر احتمالاً به دلیل افزایش سریع pH در محفظه کاتد است که حذف آمونیوم را از طریق فرار آمونیاک تسهیل کرده است. علاوه بر این، غلظت نیترات در محفظه آند ثابت ماند، اما در محفظه کاتد کاهش یافت. می‌توان گفت نیترات از محفظه کاتد از طریق غشای تعویض آنیونی به محفظه میانی مهاجرت کرده و منجر به افزایش غلظت نیترات در محفظه میانی شده است. با این حال، غشای تعویض کاتیونی بین محفظه‌های آند و میانی مانع از مهاجرت نیترات شده است. بنابراین، برای بهبود نرخ بازیابی نیتروژن، بازیافت پساب از محفظه آند به محفظه کاتد می‌تواند در تحقیقات آینده مورد بررسی قرار گیرد (Pan, 2021).

در خصوص حذف و بازیابی فسفر در سیستم زیست‌الکتروشیمیایی، نتایج این تحقیق نشان داد که در محفظه آند، طی آزمایش‌ها تغییرات قابل توجهی در غلظت فسفر مشاهده نشد. یک مطالعه نشان داده است که فسفر به‌ندرت می‌تواند از طریق فرآیندهای بی‌هوازی در محفظه آند حذف شود. علاوه بر این، غشای تعویض کاتیونی بین محفظه آند و محفظه میانی از

مهاجرت فسفر بین این دو محفظه جلوگیری می‌کند. فرآیند رسوب‌گذاری فسفر نیز به دلیل pH خنثی رخ نداده است ( Tao, 2014). در نتیجه، میزان حذف فسفر در محفظه آند بسیار کم است. در مقابل، در محفظه کاتد حذف فسفر به‌طور سریع‌تری مشاهده شد. این امر عمدتاً به دلیل اثر تغییرات pH بر فرآیندهای متعدد است که ممکن است به حذف فسفر کمک کند. جریان‌های بالاتر می‌توانند باعث حذف سریع‌تر فسفر در محفظه کاتد شوند، اما در طولانی‌مدت جذب و مهاجرت بیشتر فسفر با تشکیل سریع رسوبات فسفر محدود می‌شود. در نتیجه، پس از ۱۴ روز، حذف قابل توجهی از فسفر در سیستم‌های مختلف به‌دست نیامد و تقریباً نیمی از فسفر در محفظه کاتد باقی ماند. بنابراین، افزایش pH بافر در محفظه کاتد می‌تواند بازیابی فسفر توسط ریزجلبک‌ها و کارایی کلی حذف فسفر را افزایش دهد (Pan, 2021).

## ۵. نتیجه‌گیری نهایی

این مطالعه یک سیستم هیبریدی نوین ریزجلبک-زیست‌الکتروشیمیایی را معرفی کرد که به‌طور همزمان به تصفیه فاضلاب آلی صنعتی و کشت تمیز ریزجلبک خالص می‌پردازد. نتایج نشان داد که کارایی حذف COD و نیترژن (عمدتاً به شکل آمونیوم) در هر دو محفظه آند و کاتد بهبود یافته است. در عین حال، بازیابی و مهاجرت بسترها از طریق غشاهای تعویض آنیونی و کاتیونی در محفظه میانی صورت گرفت که منجر به رشد سریع و پایدار کلرلا و لگاریس شد. این مطالعه نشان داد که فاضلاب آلی صنعتی به‌طور مؤثری تصفیه می‌شود و همزمان زیست‌توده ریزجلبکی در محیطی جدا از پساب تولید می‌گردد. این سیستم هیبریدی می‌تواند بینش‌های مفیدی برای توسعه تولید زیست‌توده ریزجلبکی با هزینه کمتر ارائه دهد. با این حال، بهینه‌سازی بیشتر سیستم‌های تصفیه پساب برای دستیابی به کارایی بالاتر همچنان ضروری است.

## تشکر و قدردانی

از شرکت صنایع شیر ایران (پگاه) به دلیل همکاری و حمایت‌های ارزشمندشان در انجام این پروژه، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

## References

- Alipour, Z., & Azari, A., 2020. COD removal from industrial spent caustic wastewater: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 8(6), 103678. DOI: 10.1016/j.jece.2020.103678
- Baranitharan, E., Khan, M.R., Prasad, D.M.R., Teo, W.F.A., Tan, G.Y.A., Jose, R., 2015. Effect of biofilm formation on the performance of microbial fuel cell for the treatment of palm oil mill effluent. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 38(1), 15-24. DOI: 10.1007/s00449-014-1240-1
- Besson, A., Guiraud, P., 2013. High-pH-induced flocculation-flotation of the hypersaline microalga *Dunaliella salina*. *Bioresource Technology* 147, 464-470. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.08.082
- Carvalho, A.P., Silva, S.O., Baptista, J.M., Malcata, F.X., 2011. Light requirements in microalgal photobioreactors: An overview of biophotonic aspects. *Applied Microbiology and Biotechnology* 89(5), 1275-1288. DOI: 10.1007/s00253-010-3047-8
- Chaitee, S.N., Biswas, R.P., Kabir, M.I., 2021. Removal of excessive nitrogen and phosphorus from urban wastewater using local microalgal bloom. *Journal of Engineering Science* 12(3), 19-27. DOI: 10.3329/jes.v12i3.57476
- Clauwaert, P., Aelterman, P., Pham, T.H., De Schampelaire, L., Carballa, M., Rabaey, K., Verstraete, W., 2008. Minimizing losses in bio-electrochemical systems: the road to applications. *Applied Microbiology and Biotechnology* 78(3), 409-418. DOI: 10.1007/s00253-008-1522-2
- Elshobary, M.E., Zabed, H.M., Yun, J., Zhang, G., Qi, X., 2020. Recent insights into microalgae-assisted microbial fuel cells for generating sustainable bioelectricity. *International Journal of Hydrogen Energy* DOI: 10.1016/j.ijhydene.2020.06.251
- Gedda, G., Balakrishna, K., Devi, R.U., Shah, K.J., 2021. *Introduction to Conventional Wastewater Treatment Technologies: Limitations and Recent Advances*. In *Advances in Wastewater Treatment I* pp. 1-36. DOI: 10.21741/9781644901144-1

- Hou, Q., Pei, H., Hu, W., Jiang, L., Yu, Z., 2016. Mutual facilitations of food waste treatment, microbial fuel cell bioelectricity generation and *Chlorella vulgaris* lipid production. *Bioresource Technology* 203, 50-55. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.12.049
- Jia, J., Tang, Y., Liu, B., Wu, D., Ren, N., Xing, D., 2013. Electricity generation from food wastes and microbial community structure in microbial fuel cells. *Bioresource Technology* 144, 94-99. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.06.064
- Kothari, R., Azam, R., Singh, H.M., Kumar, P., Kumar, V., Singh, R.P., 2024. Nutrients sequestration from slaughterhouse wastewater with kinetic model studies using *C. vulgaris* for lipid production and reduction in freshwater footprint: A synergistic approach. *Waste and Biomass Valorization* 15(3), 1807-1818. DOI: 10.1007/s12649-023-02226-0
- Li, Z., Haynes, R., Sato, E., Shields, M. S., Fujita, Y., Sato, C., 2014. Microbial community analysis of a single chamber microbial fuel cell using potato wastewater. *Water Environment Research* 86(4), 324-330. DOI: 10.2175/106143013x13751480308641.
- Liu, Y., Harnisch, F., Fricke, K., Schröder, U., Climent, V., Feliu, J.M., 2010. The study of electrochemically active microbial biofilms on different carbon-based anode materials in microbial fuel cells. *Biosensors and Bioelectronics* 25(10), 2167-2171. DOI: 10.1016/j.bios.2010.01.019
- Logan, B.E., 2009. Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells. *Nature Reviews Microbiology* 7(5), 375-381. DOI: 10.1038/nrmicro2113
- Martínez, L.D., Olsina, R.A., Fernandez, L.P., 1998. Determination of ammonium in water samples using Nessler's reagent and a multicommutated flow system. *Analytical Sciences* 14(3), 429-433. <https://doi.org/10.2116/analsci.14.429>
- OECD. 2011. *OECD guidelines for the testing of chemicals: Freshwater alga and cyanobacteria, growth inhibition test (No. 201)*. Organisation for Economic Co-operation and Development. DOI: 10.1787/9789264069947
- Pan, M., Su, Y., Zhu, X., Pan, G., 2021. Bioelectrochemically assisted sustainable conversion of industrial organic wastewater and clean production of microalgal protein. *Resources, Conservation and Recycling* 168, 105441. DOI: 10.1016/j.biortech.2021.105441
- Sáez-Plaza, P., Navas, M. J., Wybraniec, S., Michałowski, T., García Asuero, Á., 2013. An overview of the Kjeldahl method of nitrogen determination. Part II. Sample preparation, working scale, instrumental finish, and quality control. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 43(4), 224-272. DOI: 10.1080/10408347.2012.751787
- Su, Y., 2021. Revisiting carbon, nitrogen, and phosphorus metabolisms in microalgae for wastewater treatment. *Science of the Total Environment* 762, 144590. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.144590
- Tandon, H.L.S., Cescas, M.P., Tyner, E.H., 1968. An acid-free vanadate-molybdate reagent for the determination of total phosphorus in soils. *Soil Science Society of America Journal* 32(1), 48-51. DOI: 10.2136/sssaj1968.03615995003200010012x
- Tao, Q., Luo, J., Zhou, J., Zhou, S., Liu, G., Zhang, R., 2014. Effect of dissolved oxygen on nitrogen and phosphorus removal and electricity production in microbial fuel cell. *Bioresource Technology* 164, 402-407. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.05.010
- Zhang, L., Fu, G., & Zhang, Z., 2019. Simultaneous nutrient and carbon removal and electricity generation in self-buffered biocathode microbial fuel cell for high-salinity mustard tuber wastewater treatment. *Bioresource Technology* 272, 105-113. DOI: 10.1016/j.biortech.2018.10.052
- Zhang, X., He, W., Ren, L., Stager, J., Evans, P. J., & Logan, B. E. (2015). COD removal characteristics in air-cathode microbial fuel cells. *Bioresource Technology* 176, 23-31. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.10.129
- Zhang, Y., & Angelidaki, I. (2015). Recovery of ammonia and sulfate from waste streams and bioenergy production via bipolar bioelectrodialysis. *Water Research* 85, 177-184. DOI: 10.1016/j.watres.2015.08.037
- Zhuang, L.-L., Li, M., Ngo, H.H., Wang, J., 2020. Non-suspended microalgae cultivation for wastewater refinery and biomass production. *Bioresource Technology* 308, 123320. DOI: 10.1016/j.biortech.2020.123320