



Phosphorus Removal from Treated Wastewater and Biomass Production by Microalgae *Spirulina* in Photo Bioreactor

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Dianati Tilaki, R.A.¹ PhD,
Jafarsalehi M.*¹ MSc,
Esfandyari Y.¹ MSc

How to cite this article

Dianati Tilaki, R.A., Jafarsalehi M, Esfandyari Y. Phosphorus Removal from Treated Wastewater and Biomass Production by Microalgae *Spirulina* in Photo Bioreactor. Modares Journal of Biotechnology. 2019;10(2):335-342.

¹Environmental Health Department, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

*Correspondence

Address: Environmental Health Department, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, 18 Kilometer of FarahAbad Road, Sari, Iran. Postal Code: 4661619384
Phone: +98 (11) 33543237
Fax: +98 (11) 33543237
salehi_env@yahoo.com

Article History

Received: September 17, 2017
Accepted: October 9, 2017
ePublished: June 20, 2019

ABSTRACT

Conventional wastewater treatment systems are not capable of removing phosphorus effectively. The entry of phosphorus into water resources leads to the formation of an Eutrophication phenomenon. One of the methods for phosphorus removal is the use of microalgae. In this way, besides helping with advanced sewage treatment, it can produce algae with many applications. The purpose of this study was to determine the simultaneous and to compare the phosphorus removal (rate of phosphorus) and *Spirulina* biomass production in a photobioreactor; using two kinds of treated sewage. The experiments were carried out with the manufacture of a photobioreactor and air injection by means of a fine bubble diffuser into sewage-containing reactors. The light source in this test was designed as fluorescent light bulbs and alternating radiation. Urban wastewater effluent and refined sewage were used as a culture medium in a photobioreactor. The amount of phosphorus in the purified sewage was measured by spectrophotometry at a wavelength of 690nm. The phosphorus removal and algal biomass production were measured in different culture medium containing wastewater with various concentrations of phosphorus. The initial concentrations of phosphorus in refined urban sewage and sanitary sewage were 1.96 and 0.4mg L⁻¹, respectively. Phosphorus removal during microalgae cultivation with municipal wastewater and sanitary sewerage (removal of phosphorus) for 8 days, was 71.9% and 37%, respectively. Biomass production in this time were 0.18 and 0.025g/l, respectively. By decreasing the concentration of phosphorus in the wastewater, the amount of biomass production and (removal of) phosphorus removal decreased. Treated domestic and sanitary sewage can be injected directly, without prior treatment, in photobioreactor and it is possible to remove phosphorus and to produce algal biomass.

Keywords Phosphorus; *Spirulina*; Domestic Sewage; Biomass; Photobioreactor

CITATION LINKS

[1] Removal of ammonia from wastewater effluent by ... [2] Integrated carbon dioxide capture, wastewater treatment and ... [3] Modelling phosphate transport and assimilation in microalgae; how ... [4] Phosphorus removal from urban wastewater via chemical and ... [5] Ministry of energy, Office of engineering and ... [6] Algal bioreactors for nutrient removal and biomass ... [7] Microalgae photobioreactor for nitrogen and phosphorus removal from ... [8] Microalgae for phosphorus removal from ... [9] Coupling the wastewater treatment process with Algal photobioreactor ... [10] Microalgae and wastewater ... [11] Technologies to remove phosphorus from ... [12] An energy evaluation of coupling nutrient removal from wastewater ... [13] Flue gas CO₂ capture by microalgae in photobioreactor ... [14] Biofuel production from algae utilizing ... [15] Inhibition of nitrification in municipal wastewater treating ... [16] Algal flue gas sequestration and wastewater treatment: an industrial ... [17] Wastewater nutrient removal by *Chlorella pyrenoidosa* ... [18] Algae based wastewater ... [19] Biotransformations of carbon dioxide ... [20] Microalgae cultivation in wastewater: nutrient removal from anaerobic ... [21] Optimization of CO₂ bio-mitigation by *Chlorella* ... [22] Effects of carbon dioxide feeding rate and light intensity on the fed-batch pulse-feeding ... [23] Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels ... [24] Standard methods for the examination of water and ... [25] Microalgae photobioreactor for nitrogen and phosphorus removal from wastewater ... [26] Effects of phosphorus concentration and light ... [27] Nitrate and phosphate removal by *Spirulina* ... [28] *Spirulina* cultivation in digested sago starch factory ... [29] Growth of *Spirulina maxima* on swine ... [30] Removal of phosphate by microalgae from municipal ... [31] Removal of phosphate by microalgae from municipal ... [32] Biofixation of Carbon Dioxide from Kerosene Combustion ... [33] Nitrate and Phosphate Removal from Treated Dairy Wastewater ...

بررسی حذف فسفر و تولید ریزجلبک اسپیرولینا با استفاده از فاضلاب در فتوبیوراکتور

رضاعلی دیانتی-تیلکی PhD

گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

مرتضی جعفرصالحی* MSc

گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

یحیی اسفندیاری MSc

گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

چکیده

سیستم‌های متداول تصفیه فاضلاب قادر به حذف موثر فسفر نیستند. ورود فسفر به منابع آبی موجب ایجاد یوتروفیکاسیون می‌شود. یکی از روش‌های حذف فسفر استفاده از ریزجلبک‌ها است. با این روش علاوه بر کمک به تصفیه پیشرفته فاضلاب می‌توان زیست‌توده که کاربردهای فراوانی دارد، تولید نمود. هدف مطالعه حاضر تعیین و مقایسه میزان حذف فسفر و تولید ریزجلبک اسپیرولینا در فتوبیوراکتور با استفاده از دو نوع فاضلاب تصفیه‌شده بود. آزمایش‌ها با ساخت فتوبیوراکتور و تزریق هوا به وسیله دیفیوزر حباب ریز در راکتورهای حاوی فاضلاب انجام شد. منبع نور در این آزمایش لامپ‌های فلورسنت سفید بودند و به صورت تابش متناوب طراحی شد. از پساب تصفیه‌خانه فاضلاب شهری و فاضلاب تصفیه‌شده سرویس بهداشتی به عنوان محیط کشت در فتوبیوراکتور استفاده شد. غلظت فسفر در فاضلاب تصفیه‌شده به روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۶۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان حذف فسفر و تولید زیست‌توده در محیط کشت‌های حاوی فاضلاب با غلظت‌های مختلف فسفر اندازه‌گیری شد. غلظت اولیه فسفر در فاضلاب تصفیه‌شده شهری و در فاضلاب سرویس بهداشتی به ترتیب ۱/۹۶ و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر بود. در کشت با فاضلاب شهری در مدت ۸ روز ۷۱/۹٪ فسفر حذف شد و ۰/۱۸ گرم در لیتر زیست‌توده تولید شد. در آزمایش با فاضلاب تصفیه‌شده سرویس بهداشتی در مدت ۸ روز ۳۷٪ فسفر حذف شد و غلظت زیست‌توده به ۰/۲۵ گرم در لیتر افزایش یافت. با کاهش غلظت فسفر در فاضلاب، میزان تولید زیست‌توده و درصد حذف فسفر کاهش یافت. می‌توان نتیجه گرفت که ریزجلبک اسپیرولینا قادر به حذف فسفر از فاضلاب تصفیه‌شده و تولید زیست‌توده است.

کلیدواژه‌ها: فسفر، اسپیرولینا، فاضلاب شهری، زیست‌توده، فتوبیوراکتور

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۶/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۷/۱۷

*نویسنده مسئول: salehi_env@yahoo.com

مقدمه

فاضلاب تصفیه‌شده در فرآیند لجن فعال دارای مقادیری فسفر و ازت به شکل‌های فسفات، نیترات، نیتريت و آمونیاک است. هدف از تصفیه پیشرفته فاضلاب حذف بیشتر نیتروژن و فسفر، فلزات سنگین و میکروب‌های بیماری‌زا است. با وجود اهمیت فسفر در ترکیب ساختمان سلولی، در صورت سرشار شدن آب از مواد مغذی، یکی از عوامل آلاینده منابع آبی نیز محسوب می‌شود^[1]. فسفر با ترکیب در غشای سلولی و اسیدهای نوکلئیک و آدنوزین‌تری‌فسفات (ATP) یکی از عناصر مغذی محدودکننده رشد در بسیاری از اکوسیستم‌ها است^[2, 3]. ورود مواد مغذی نظیر ازت و فسفر به اکوسیستم‌های آبی باعث بروز پدیده یوتروفیکاسیون می‌شود^[4]. حد مجاز فسفر در فاضلاب تصفیه‌شده طبق استاندارد وزارت نیرو برای تخلیه به آب‌های سطحی و چاه جاذب ۶ و در اتحادیه اروپا یک میلی‌گرم در لیتر است در حالی که غلظت فسفر در آب‌های سطحی کمتر از ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر است^[5, 6].

زیست‌فناوری دانشگاه تربیت مدرس

در تصفیه‌خانه‌های بزرگ از ترکیب روش شیمیایی و بیولوژیک برای رسیدن به استانداردهای تخلیه استفاده می‌شود^[4]. تصفیه بی‌هوازی فاضلاب کارایی کمی در حذف مواد مغذی دارد^[7]. با پیشرفت تکنولوژی نیاز به روش‌های ارزان‌تر تصفیه پیشرفته فاضلاب ضروری به نظر می‌رسد^[6]. ترسیب شیمیایی می‌تواند غلظت فسفر در فاضلاب خروجی را تا ۰/۰۵-۰/۰۴ میلی‌گرم در لیتر کاهش دهد. مهم‌ترین عیب این روش علاوه بر صرف هزینه زیاد، تولید لجن خصوصاً هنگام استفاده از آهنک است^[8]. ریزجلبک‌ها در تصفیه پیشرفته فاضلاب برای حذف ازت و فسفر دارای توجیه فنی و اقتصادی هستند. گزارش‌هایی از حذف ۹۷/۸٪ فسفر از فاضلاب خانگی با ریزجلبک‌ها وجود دارد^[9]. در مقایسه با روش‌های شیمیایی و فیزیکی، تمایل زیادی به استفاده از روش‌های بیولوژیکی حذف فسفر از فاضلاب وجود دارد^[10]. فرآیندهای بیولوژیکی حذف مواد مغذی دارای مزایایی نظیر هزینه نگهداری کم، تولید زیست‌توده و اکسیژن در مقایسه با روش‌های شیمیایی هستند^[11]. ریزجلبک را نیز همچنین می‌توان در آب‌های شور و لب‌شور پرورش داد^[8]. یکی از مزایای فتوبیوراکتور امکان کشت در فضای گلخانه‌ای است. راندمان حذف فسفر در فتوبیوراکتورها به فاکتورهایی نظیر pH، دما، نور، و غلظت ریزجلبک وابسته است^[9].

ریزجلبک میکروارگانیسم یوکاریوت و فتوسنتزکننده میکروسکوپی است. زمان تقسیم سلولی آنها کمتر از چند ساعت است. سرعت فتوسنتز ریز جلبک‌ها ۱۰ تا ۵۰ برابر گیاهان خشکی است. جرم زیست‌توده ریزجلبک‌ها در کمتر از یک روز دو برابر می‌شود. ۱۱٪ وزن ریزجلبک‌ها را ازت و فسفر تشکیل می‌دهد و بسیار بیشتر از گیاهان خشکی‌زی است^[12]. در نتیجه می‌توان از یک سیستم زیستی کوچک برای جذب حجم زیادی از ازت و فسفر استفاده کرد^[12]. بنا به گزارش‌ها استفاده از فتوبیوراکتور مقرون به صرفه‌ترین روش تصفیه پیشرفته فاضلاب است^[13]. کشت جلبک در فتوبیوراکتور به علت سطح جذب نور بیشتر، امکان جذب بیشتر دی‌اکسیدکربن، فضای کم راکتور از طریق زمان ماند کمتر و کاهش امکان آلودگی دارای مزایای بهتری نسبت به برکه‌های تثبیت است^[14, 6]. تحقیقاتی روی استفاده از فاضلاب خروجی از ته‌نشینی اولیه و ثانویه و همچنین لجن در فتوبیوراکتور برای تولید زیست‌توده صورت گرفته است^[15]. در صورت استفاده از فتوبیوراکتور در حذف مواد مغذی از فاضلاب، دیگر نیازی به استفاده از مواد مغذی مصنوعی در تثبیت دی‌اکسیدکربن توسط جلبک نیست و همچنین فرآیند دینتریفیکاسیون و حذف فسفر در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب نیز حذف خواهد شد^[8].

از زیست‌توده جلبکی تولیدشده نیز می‌توان در تولید محصولات ارزش شیمیایی، بیوگاز، کود و غذای حیوانات، بیواتانول و بیودیزل استفاده کرد. حداکثر حذف مواد مغذی هنگامی صورت می‌گیرد که نسبت ازت به فسفر در فاضلاب برابر با زیست‌توده جلبک باشد^[14]. تجربیات کراگس و همکاران نشان داد که در زمستان تولید زیست‌توده توسط ریزجلبک در فاضلاب به مراتب کمتر از تولید در تابستان است^[6].

در مطالعه ووئرتز و فیفر، حذف ۹۶٪ آمونیوم و ۹۹٪ ارتوفسفات از فاضلاب توسط ریزجلبک صورت گرفت. تحقیقات کانگ حاکی از سرعت حذف ازت به میزان ۵۵/۸ میلی‌گرم در لیتر در روز و حذف ۱۷/۴ میلی‌گرم در لیتر در روز فسفر در فتوبیوراکتور بود. مطالعات روترمال نشان داد مواد مغذی شامل ازت و فسفر در فتوبیوراکتور به صورت تغذیه با فاضلاب بدون رقیق‌سازی و در زمان ماندی ۳ و ۷ روز حذف می‌شود. فاضلاب مصنوعی پس از تصفیه در سیستم

به وسیله اسپکتروفتومتر DR2800 (HACK؛ ایالات متحده آمریکا) صورت گرفت. برای اندازه گیری زیست توده جلبک تولیدی، ابتدا نمونه از فیلتر غشایی با اندازه ۰/۴۵ میکرون عبور داده شد و بعد از شست و شوی فیلتر با آب مقطر و جداسازی نمک های باقیمانده، جداسازی زیست توده تر صورت گرفت. با قراردادن فیلتر در دمای ۸۰°C به مدت ۱۲ ساعت، جرم فیلتر خشک شده اندازه گیری و با اختلاف جرم فیلتر تر و خشک میزان زیست توده در نمونه محاسبه شد. برای اندازه گیری جرم فیلترهای کاغذی از ترازوی آنالیتیک مدل HR200 (AND؛ ژاپن) با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم استفاده شد. با اندازه گیری جرم خشک زیست توده جلبکی مرتبط با دانسیته نوری طی آزمایش های جداگانه، منحنی کالیبراسیون رسم شد. در آزمایش های متوالی در حالت های مختلف با اندازه گیری و با استفاده از منحنی کالیبراسیون، غلظت زیست توده (جلبکی) تولید شده تعیین شد. حجم هوای عبور داده شده از سیستم توسط فلومتر مدل G1.6 (WIZIT؛ چین) اندازه گیری شده بود. شدت روشنایی توسط نورسنج 1335 (TES؛ تایوان) اندازه گیری شد. میانگین دما طی مدت آزمایش ۲۵°C بود. برای اندازه گیری فسفر، نمونه فاضلاب با فیلتر غشایی با منافذ ۰/۴۵ میکرون صاف و سپس به روش اسپکتروفتومتری مطابق روش استاندارد در طول موج ۶۹۰ نانومتر اندازه گیری شد. به دلیل محدودیت اندازه گیری فسفر توسط اسپکتروفتومتر برای غلظت های بیشتر از ۲ میلی گرم در لیتر، نمونه های محیط کشت زاروک شامل فاضلاب مصنوعی ورودی و خروجی از فتوبیوراکتور با رقت ۰/۰۱ اندازه گیری شد اما نمونه های حاوی فاضلاب شهری و سرویس بهداشتی که حاوی فسفر کمتر از ۲ میلی گرم در لیتر بودند، رقیق سازی نشدند و میزان جذب در فتومتر مستقیماً قرائت شد. با رسم منحنی کالیبراسیون، میزان فسفر در نمونه ها مشخص شد [22]. طی هر مرحله اندازه گیری فسفر در هر نمونه سه بار تکرار و با محاسبه میانگین داده ها و انحراف معیار نتایج تحقیق گزارش شد.

میزان تولید زیست توده یا Productivity جلبک به صورت گرم بر لیتر در روز از رابطه زیر به دست آمد:

$$P = (X_t - X_0) / (t - t_0)$$

که در آن X_t گرم در لیتر جلبک در روز پایان و X_0 گرم در لیتر جلبک در روز آغاز است (شکل ۱).

جدول ۱) ترکیب شیمیایی ماکروالمنت محیط کشت زاروک [19]

غلظت (گرم در لیتر)	ترکیب محیط کشت
۸	NaHCO ₃
۲/۵	NaNO ₃
۱	K ₂ SO ₄
۱	NaCl
۰/۵	K ₂ HPO ₄
۰/۲	MgSO ₄ .7H ₂ O
۰/۰۸	CaCl ₂ .2H ₂ O
۰/۰۸	EDTA
۰/۰۱	FeSO ₄

جدول ۲) مشخصات فاضلاب شهری تصفیه شده

غلظت (میلی گرم در لیتر)	مشخصات فاضلاب
۳۰	BOD ₅
۵۵	COD
۲۸	TSS
۱۷	VSS
۱/۹۶	فسفر
۷/۶	pH

بیولوژیکی به روش لجن فعال وارد فتوبیوراکتور با ریزجلبک کلرلا ولگاریس (*Chlorella vulgaris*) می شد. در این تحقیق حذف قابل توجه ازت و فسفر مشاهده شد [8]. تحقیقاتی که توسط وون صورت گرفت نشان داد که تصفیه پیشرفته فاضلاب توسط ریزجلبک توجیه اقتصادی دارد [17]. در مطالعه ای مشخص شد استفاده از فاضلاب تصفیه شده شهری با زمان ماند ۳ روز توسط ریزجلبک کلرلا درصد زیادی از آمونیوم و اورتو فسفات را کاهش می دهد [13]. در تحقیق انجام شده توسط کروسوک و همکاران استفاده از ترکیب ۷۰٪ فاضلاب و ۳۰٪ آب دریاچه به منظور تامین باکتری ها برای همزیستی بهتر جلبک و باکتری برای تصفیه پیشرفته فاضلاب شهری در سوند استفاده شد [14].

در مطالعه ما، رتینر از فاضلاب تصفیه شده به روش بیوراکتور غشایی بی هوازی برای کشت همزمان جلبک و حذف مواد مغذی استفاده شد [18]. در تحقیقی که توسط کیم صورت گرفت فاضلاب بدون رقیق سازی وارد فتوبیوراکتور شد [1]. در تحقیق شکاوات و همکاران فاضلاب لبنی تصفیه شده برای رشد ریزجلبک به کار رفت، در این تحقیق بهترین غلظت فاضلاب ۳۰٪ مشخص شد.

تاکنون مطالعات متعددی درباره حذف فسفر از فاضلاب به وسیله ریزجلبک اسپیرولینا صورت گرفته است. اما درباره استفاده از فاضلاب تصفیه شده سرویس بهداشتی در تولید جلبک و حذف فسفر تحقیقی یافت نشده است. هدف از این تحقیق تعیین میزان حذف فسفر و تولید زیست توده با استفاده از فاضلاب تصفیه شده سرویس بهداشتی در فتوبیوراکتور و تعیین اثر عواملی شامل غلظت فسفر در فاضلاب ورودی و زمان تماس بود.

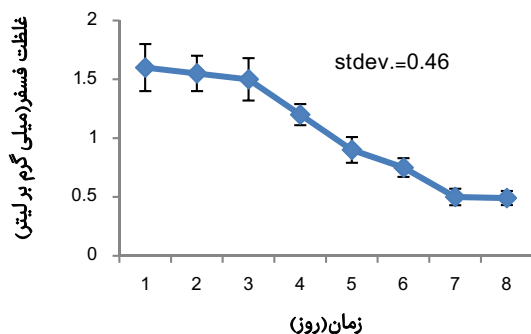
مواد و روش ها

در مطالعه تجربی حاضر کشت خالص ریزجلبک اسپیرولینا که از پژوهشکده اکولوژی آبریان دریای خزر تهیه شده بود در آزمایشگاه و در محیط کشت زاروک انجام شد. ترکیب ماکروالمنت ها در محیط کشت در جدول ۱ [19] نشان داده شده است. به علت استفاده از آب شیر به جای آب مقطر در ترکیب محیط کشت، در استفاده از میکروالمنت ها صرف نظر شد. روش اجرا مطابق روش های مندرج در سایر مقالات انجام شد [20, 21]. به منظور جایگزینی فاضلاب حاوی مواد مغذی با محیط کشت مصنوعی، دو منبع شامل فاضلاب تصفیه شده شهری و فاضلاب تصفیه شده سرویس بهداشتی (پکیج هوازی) مطابق جدول های ۲ و ۳ به کار رفتند.

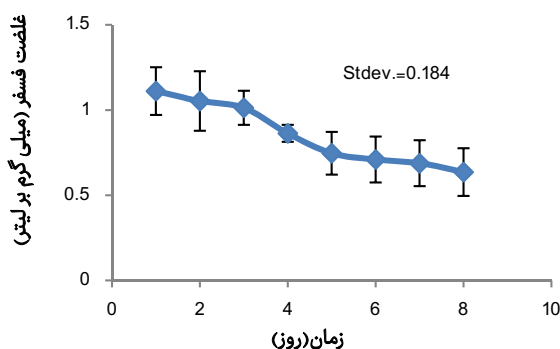
کشت ریزجلبک اسپیرولینا همان طور که در شکل ۱ نشان داده شده است در یک فتوبیوراکتور با حجم ۴ لیتر (حجم خالص ۳ لیتر) و به صورت مقطع انجام شد. جنس فتوبیوراکتور طلق شفاف (پلکسی گلس) با ضخامت ۰/۵ میلی متر و به شکل مکعب مستطیل بود. هوادهی و اختلاط در محیط کشت به میزان ۰/۵ لیتر بر دقیقه به ازای هر لیتر حجم با استفاده از یک عدد دیفیوزر ۲۵ میلی متر و از عمق راکتور انجام شد. منبع تامین نور چهار عدد لامپ فلورسنت کم مصرف ۳۵ وات بود و تابش نور به صورت متناوب (۱۴ ساعت روشن و ۱۰ ساعت خاموش) تنظیم و به وسیله تایمر آنالوگ انجام شد. شدت روشنایی در سطح خارجی فتوبیوراکتور ۱۰ کیلو لوکس (معادل ۱۲۰ میکرومول فوتون بر ثانیه بر مترمربع) بود [6]. میزان pH محیط کشت به وسیله محلول یک مولار هیدروکسید سدیم ۹/۶ تا ۱۱/۳ تنظیم شد.

نمونه برداری از محتویات راکتور هر ۲۴ ساعت برای اندازه گیری pH و دانسیته نوری (OD) و فسفر کل انجام شد. اندازه گیری pH با استفاده از pH متر مدل SL-901 (SANA؛ چین) و اندازه گیری OD

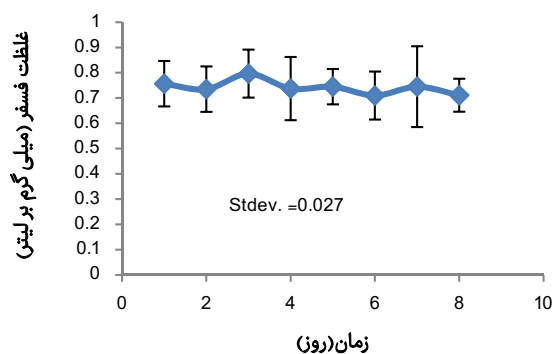
مشخصات فاضلاب	غلظت (میلی گرم در لیتر)
BOD5	۴۵
COD	۱۰۰
TSS	۳۵
VSS	۲۵
فسفر	۰/۴
pH	۷/۴



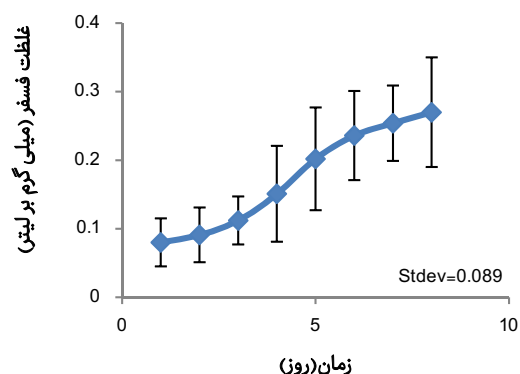
نمودار ۲) تغییرات غلظت فسفر در زمان‌های مختلف (محیط کشت زاروک و pH=۹/۵)



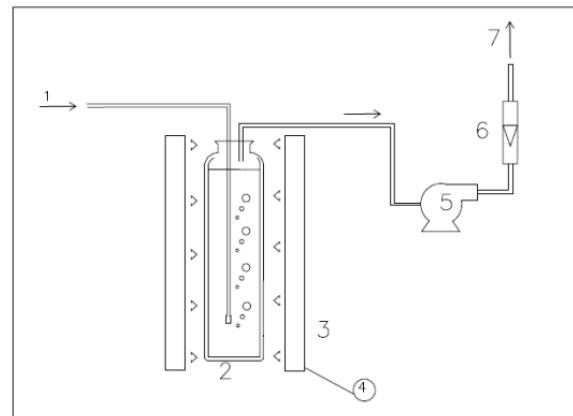
نمودار ۳) تغییرات غلظت فسفر در زمان‌های مختلف (محیط کشت زاروک با رقت ۵۰٪ و pH=۹/۵)



نمودار ۴) تغییرات غلظت فسفر در زمان‌های مختلف (محیط کشت زاروک با رقت ۲۰٪ فسفر، و pH=۹/۵)



نمودار ۵) تغییرات غلظت زیست‌توده ریزجلبک اسپیرولینا در زمان‌های مختلف (محیط کشت فاضلاب شهری و pH=۹/۵)



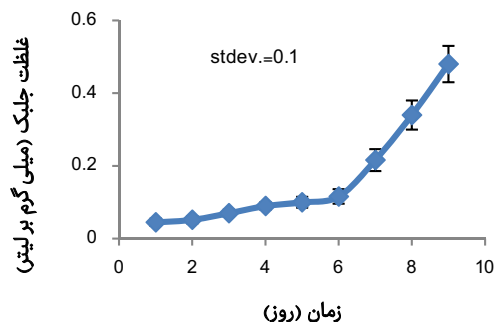
شکل ۱) نمای شماتیک اجزای مورد استفاده در پایلوت حذف فسفر در فتوبیوراکتور؛ ۱) مسیر ورود هوا، ۲) فتوبیوراکتور، ۳) لامپ فلورسنت، ۴) تایمر لامپ، ۵) پمپ مکند، ۶) فلومتر، ۷) مسیر خروج هوا

یافته‌ها

کاهش فسفر در محیط کشت زاروک: ابتدا ریزجلبک اسپیرولینا در محیط کشت زاروک حاوی فسفر با غلظت ۱۱۳ میلی گرم در لیتر کشت داده شد. تولید زیست‌توده با رشد ریزجلبک و سبز شدن محیط کشت آشکار شد. در این آزمایش شکوفایی جلبکی پس از ۱۲ روز ایجاد شد. میزان pH اولیه محیط کشت ۹/۵ بود و به تدریج پس از ۱۲ روز به ۸/۵ کاهش یافت. همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود سرعت رشد تا روز ششم کند بود و پس از آن با آهنگ بیشتری ادامه یافت (روند رشد ریزجلبک روزانه با اندازه‌گیری دانسیته نوری (OD) صورت گرفت و با رسم منحنی کالیبراسیون نمودار ۱ غلظت زیست‌توده محاسبه شد؛ نمودار ۱).

اثر غلظت فسفر بر رشد ریزجلبک و میزان حذف فسفر: پس از کشت ریزجلبک با محیط کشت زاروک، فرآیند کشت در رقت‌های ۵۰٪ و ۲۰٪ نیز صورت گرفت. رابطه تغییرات غلظت فسفر در نمودارهای ۲، ۳ و ۴ نشان داده شده است.

رشد ریزجلبک و حذف فسفر در فاضلاب تصفیه‌شده: رشد ریزجلبک در فاضلاب شهری که pH آن توسط هیدروکسید سدیم به ۹/۵ افزایش داده شده بود در شرایط محیطی مشابه با آزمایش قبل صورت گرفت و نتایج در نمودار ۵ نشان داده شده است (نمودارهای ۵ تا ۹).



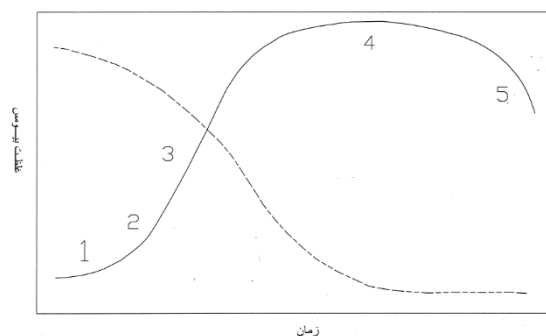
نمودار ۶) تغییرات غلظت زیست‌توده ریزجلبک اسپیرولینا در زمان‌های مختلف و میزان pH برابر با ۹/۵

بحث

محققان تحقیقات زیادی در حذف فسفر از فاضلاب تصفیه شده با استفاده از ریزجلبک‌ها انجام داده‌اند، در حالی که در این تحقیق حذف فسفر و تولید زیست‌توده در فتوبیوراکتور با استفاده از فاضلاب سرویس بهداشتی صورت گرفته است.

در مطالعه حاضر که روی ریزجلبک اسپیرولینا صورت گرفته است، غلظت‌های مختلف فسفر در فاضلاب تصفیه شده روی رشد ریزجلبک اسپیرولینا تاثیر داده شده تا اثر این ماده بر تولید زیست‌توده و امکان رشد ریزجلبک مورد بررسی و ارزیابی قرار بگیرد. به منظور بررسی اثر غلظت فسفر بر رشد ریزجلبک و راندمان حذف در محیط کشت زاروک، از رقت‌های ۱۰۰٪، ۵۰٪ و ۲۰٪ فسفر استفاده شد. با کاهش غلظت فسفر در محیط کشت، زیست‌توده کمتری تولید شد. در محیط کشت زاروک با غلظت اصلی در مدت ۸ روز غلظت فسفر با ۶۹٪ کاهش از ۱/۶ میلی‌گرم در لیتر به ۰/۴۹ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت. در محیط کشت زاروک با رقت فسفر ۵۰٪ در مدت ۸ روز غلظت فسفر ۴۵٪ کاهش یافت و از ۱/۱۵ میلی‌گرم در لیتر به ۰/۶۳ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت. در این محیط کشت با رقت ۲۰٪ در مدت ۸ روز غلظت فسفر ۱۱٪ کاهش یافت و از ۰/۷۹ میلی‌گرم در لیتر به ۰/۷ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت.

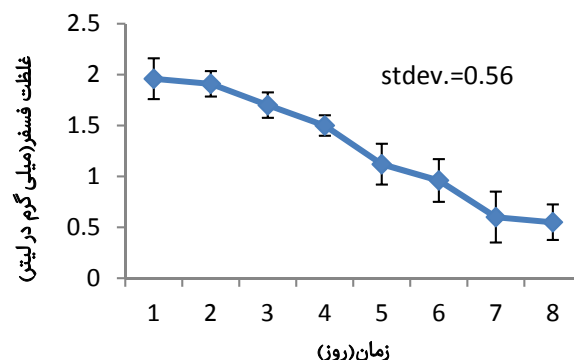
در این تحقیق ریزجلبک اسپیرولینا در فتوبیوراکتور منقطع با محیط کشت زاروک و فاضلاب رشد کرد. به علت این که میزان انحلال دی‌اکسیدکربن در آب در دمای متعارفی کم (۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) است برای به حداقل رساندن انرژی لازم برای هوادهی و تزریق دی‌اکسیدکربن از سنگ هوای آکواریوم حباب ریز استفاده شد (نمودار ۱۰).



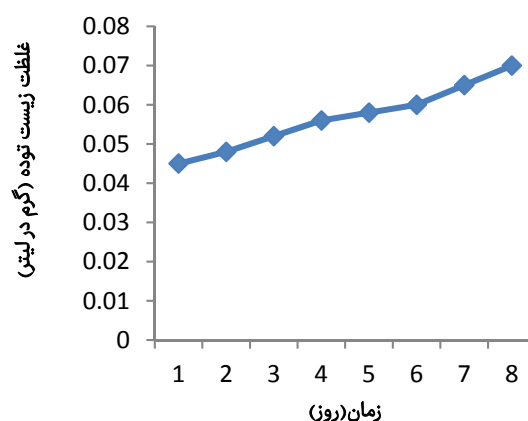
نمودار ۱۰) افزایش غلظت زیست‌توده در مقابل کاهش مواد مغذی در محیط کشت جلبک‌ها [16]

همان‌طور که نمودار ۱۰ نشان می‌دهد روند رشد ریزجلبک‌ها همانند سایر میکروارگانیسم‌ها از ۵ فاز تشکیل شده است که در نمودار به شماره‌های ۱- فاز تاخیری، ۲- فاز رشد نمایی یا لگاریتمی، ۳- فاز رشد خطی، ۴- فاز رشد ثابت، ۵- فاز خودتخریبی یا مرگ نشان داده شده است [15]. در این تحقیق مطابق با شکل نام‌برده در فازهای ۱، ۲ و ۳ رشد ریزجلبک صورت گرفت. در طول این مدت اغلب مواد مغذی موجود در محیط کشت مصرف می‌شود. در فاز ۴ زیست‌توده اندکی تولید شد و در فاز ۵ ریزجلبک به شکل لخته درآمد و با تغییر رنگ از سبز به قهوه‌ای و مرگ و میر ریزجلبک، پایان یافتن مواد مغذی آشکار شد. در حالی که در فاز ۴ و ۵ رشد ثابت و خودتخریبی صورت گرفت. بنابراین از نظر اقتصادی در فتوبیوراکتور منقطع پس از پایان فاز ۳، بهره‌برداری از سیستم باید متوقف شود.

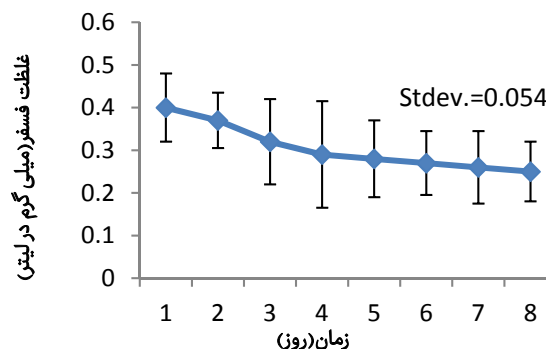
برای جایگزینی مواد مغذی در محیط کشت مصنوعی (زاروک)، از



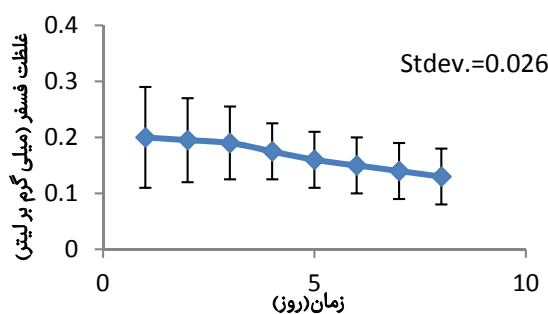
نمودار ۶) تغییرات غلظت فسفر در زمان‌های مختلف (محیط کشت فاضلاب شهری و pH=۹/۵)



نمودار ۷) تغییرات غلظت زیست‌توده ریزجلبک اسپیرولینا در زمان‌های مختلف (محیط کشت فاضلاب سرویس بهداشتی و pH=۹/۵)



نمودار ۸) تغییرات غلظت فسفر در زمان‌های مختلف (محیط کشت شامل فاضلاب سرویس بهداشتی، pH=۹/۵)



نمودار ۹) تغییرات غلظت فسفر در زمان‌های مختلف (محیط کشت شامل ۵۰٪ فاضلاب سرویس بهداشتی، ۵۰٪ آب مقطر، pH=۹/۵)

با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر ازت غالباً به شکل آمونیوم و ۵ میلی‌گرم در لیتر فسفات، توانایی تولید ۱/۵ گرم زیست‌توده در هر لیتر حجم راکتور را دارد [24].

تحقیق *مارتینر* و همکاران در مورد حذف ازت و فسفر از فاضلاب تصفیه‌شده به روش بیوراکتور غشایی بی‌هوازی رقیق‌شده در pH=7 خنثی با موفقیت صورت گرفت. به‌ازای هر گرم فاضلاب تصفیه‌شده ۱۳۷/۶ میلی‌گرم در لیتر و به‌ازای هر لیتر حجم فتوبیوراکتور ۷/۳±۸ میلی‌گرم در لیتر فسفر حذف شد. درصد حذف فسفات در ۴۲ روز آزمایش به ۹۷/۸٪ رسید [18].

اثر غلظت‌های مختلف فسفر و شدت نور بر میزان و ترکیب زیست‌توده اسپیرولینا مورد بررسی قرار گرفت. حداکثر میزان تولید بیومس برابر با ۳/۹۵۲ گرم بر لیتر در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر K_2HPO_4 و شدت نور ۶۰ میکرومول بر ثانیه در مترمربع مشاهده شد [26].

حذف فسفات و نیترات از فاضلاب به‌وسیله ریزجلبک اسپیرولینا در آزمایش‌های ناپیوسته مورد بررسی قرار گرفت. شدت نور ۴۰ میکرومول بر ثانیه در مترمربع و حجم ظرف کشت ۵۰۰ میلی‌لیتر و غلظت اولیه جلبک ۰/۵ گرم بر لیتر بود. بهترین دما برای حذف نیتروژن ۳۰°C بود و حذف فسفر در دمای پایین‌تر بهتر بود. بیشتر فسفر به‌صورت رسوب شیمیایی و غیربیولوژیک بود. نرخ تولید زیست‌توده ۳۳ میلی‌گرم بر لیتر در روز بود [27].

پرورش ریزجلبک اسپیرولینا در فاضلاب کارخانه تولید نشاسته از پالم مورد بررسی قرار گرفت. فاضلاب حاوی نسبت کربن به نیتروژن بالا بود که طی تخمیر بی‌هوازی در هاضم دارای بستر با جریان رو به بالا مورد هضم قرار گرفت. پساب هاضم برای کشت ریزجلبک اسپیرولینا استفاده شد. با اضافه‌کردن اوره به غلظت ۶ میلی‌مولار و K_2HPO_4 با غلظت ۲ میلی‌مولار تولید زیست‌توده به میزان ۱۴/۴ گرم بر مترمربع در روز حاصل شد [28].

کشت ریزجلبک اسپیرولینا در محیط کشت آبی حاوی فضولات خوک مورد بررسی قرار گرفت. حداکثر غلظت کلروفیل ۴ میلی‌گرم بر لیتر پس از ۱۴۰ ساعت زمان تماس با استفاده از مخلوط ۵۰٪ آب و ۵۰٪ فضولات خوک به دست آمد [29].

اصلاح ترکیب شیمیایی بیومس اسپیرولینا در محیط کشت حاوی مقادیر محدودشده فسفر مورد بررسی قرار گرفت. با محدودکردن غلظت فسفر، ترکیب شیمیایی زیست‌توده تغییر یافت، به‌گونه‌ای که کربوهیدرات از ۹ به ۶۵٪ افزایش، لیپید از ۴/۹ به ۷/۵٪ افزایش و پروتئین از ۴۶/۵ به ۲۵٪ کاهش پیدا کرد [30].

حذف فسفات به‌وسیله ریزجلبک اسپیرولینا از پساب خروجی فاضلاب شهری در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. طول دوره کشت ۸ روز و غلظت اولیه اسپیرولینا به‌صورت وزن خشک ۰/۵ گرم بر لیتر بود. وزن نهایی جلبک اسپیرولینا در انتهای دوره رشد (روز هشتم) به ۱/۹۳ گرم بر لیتر افزایش یافت [31].

تولید زیست‌توده جلبکی اسپیرولینا با تزریق گاز احتراق نفت سفید به محیط کشت فاقد منبع کربنی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایشات با در دو حالت تزریق هوا و تزریق گاز احتراق به فتوبیوراکتور حاوی محیط کشت جلبک انجام شد. غلظت اولیه جلبک ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر بود. غلظت زیست‌توده جلبک با تزریق هوا و گاز احتراق به‌ترتیب ۰/۲۵ و ۱/۶۳ گرم بر لیتر به دست آمد که نشان‌دهنده تولید زیاد این جلبک با تزریق گاز احتراق به محیط کشت است [32].

حذف نیترات و فسفات از پساب ساختگی صنایع لبنی با استفاده از ریزجلبک کلرلا در حضور بار آلی مورد بررسی قرار گرفت. طی دوره رشد هفت روزه غلظت نیترات و فسفات موجود در محیط کشت

فاضلاب تصفیه‌شده استفاده شد. فاضلاب خروجی از ته‌نشینی ثانویه مستقیماً به فتوبیوراکتور تزریق شد و در این آزمایشات ریزجلبک در فاضلاب تیمارنشده مشابه نتایج مطالعات روتما [8] به‌خوبی رشد کرد اما در شرایط آزمایشگاهی مشابه، رشد تولید زیست‌توده در فاضلاب کندتر از آزمایش با محیط کشت زاروک بود و حداکثر غلظت زیست‌توده در فتوبیوراکتور در روزهای هفتم و هشتم آزمایش مشاهده شد. علت این پدیده کم‌تر بودن غلظت مواد مغذی به‌ویژه فسفر در فاضلاب شهری بود. با پایان‌یافتن مواد مغذی در چند روز اول، رشد جلبک پایان یافت. در این مدت ۷۱/۹٪ فسفر موجود در فاضلاب حذف شد و غلظت فسفر از ۱/۹۶ میلی‌گرم در لیتر به ۰/۵۵ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت. در کشت ریزجلبک با فاضلاب شهری که غلظت فسفر ۱/۹۶ میلی‌گرم در لیتر بود، ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر زیست‌توده تولید شد که با نتایج تحقیقات تئوری مشابهت دارد. در آزمایش با فاضلاب سرویس بهداشتی تصفیه‌شده به‌علت کم‌تر بودن مواد مغذی به‌ویژه فسفر، زیست‌توده کمتری در مقایسه با کشت در فاضلاب شهری تولید شد که این نتایج با مطالعات کریستانسون مشابهت دارد [23]. در این آزمایش ۳۷٪ محتوی فسفر فاضلاب حذف شد و میزان فسفر از ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر به ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت. در آزمایشی دیگر از محیط کشت حاوی ۵۰٪ فاضلاب سرویس بهداشتی و ۵۰٪ آب مقطر استفاده شد در این مرحله ۳۵٪ میزان فسفر فاضلاب حذف شد و غلظت فسفر از ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر به ۰/۱۳ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت.

نتایج تحقیق *بونچای* و همکاران نشان داد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* توانایی خوبی در حذف فسفات از پساب خروجی واحدهای ته‌نشینی اولیه و ثانویه تصفیه‌خانه فاضلاب شهری دارد. در این بررسی فاضلاب تصفیه‌شده پس از حذف ذرات معلق و میکروارگانیسم‌ها توسط فیلتراسیون، با اشعه ماورای بنفش گندزدایی شد. میزان حذف فسفات از فاضلاب تیمارشده با غلظت ۱۴۹/۰ میلی‌گرم در لیتر ۷۸/۰۲٪ گزارش شد [24].

نتایج تحقیقات کندریک در حذف فسفر از فاضلاب تصفیه‌شده به کمک مخلوطی از ریزجلبک‌ها که غالباً گونه‌های سندسموس (*Scenedesmus*) بودند، نشان داد در مدت ۲۳ روز بهره‌برداری مداوم از فتوبیوراکتور جریان پیوسته با زمان ماند هیدرولیکی ۴/۲۹ روز غلظت فسفر از ۱۷ میلی‌گرم در لیتر به ۰/۵۲±۳۹۹ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت. در آزمایش دیگری با غلظت کمتر فسفر با زمان ماند هیدرولیکی ۲ روز، غلظت از ۲/۹۵ میلی‌گرم در لیتر به ۰/۲۷ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت. در این بررسی از تابش نور مصنوعی با شدت ۱۰ کیلولوکس استفاده شد [6].

تحقیق انجام‌شده توسط روتما نشان داد که حذف مواد مغذی در فتوبیوراکتور به‌صورت تغذیه با فاضلاب بدون رقیق‌سازی صورت می‌گیرد. در این مطالعه کشت جلبک با فاضلاب مصنوعی پس از تصفیه در سیستم بیولوژیکی به روش لجن فعال وارد فتوبیوراکتور با ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* شد. در مدت ۷ روز غلظت فسفر از ۴ میلی‌گرم در لیتر به ۱/۶ میلی‌گرم در لیتر (۶۰٪) کاهش یافت [8].

مطالعات کریستانسون نشان داد که افزایش تولید زیست‌توده متناسب با افزایش غلظت مواد مغذی در فاضلاب است به این صورت که اگر غلظت ازت در سه نوع فاضلاب شهری خام رقیق، متوسط و غلیظ به‌ترتیب ۲۰، ۴۰ و ۸۵ میلی‌گرم در لیتر و غلظت فسفر به‌ترتیب ۴، ۸ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر باشد، غلظت زیست‌توده به‌ترتیب به ۰/۳، ۰/۶ و ۱/۴ گرم در لیتر خواهد رسید [25].

تحقیقات انجام‌شده توسط اسپلینگ در موسسه محیط زیست فنلاند نشان داد که استفاده از فاضلاب خام صاف‌شده و بدون رقیق‌سازی

منابع

- 1- Kim J, Lingaraju BP, Rheau R, Lee YJ, Siddiqui KF. Removal of ammonia from wastewater effluent by *Chlorella Vulgaris*. *Tsinghua Sci Technol*. 2010;15(4):391-6.
- 2- Razzak SA, Hossain MM, Lucky RA, Bassi AS, de Lasa H. Integrated carbon dioxide capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing- a review. *Renew Sustain Energy Rev*. 2013;27:622-53.
- 3- John EH, Flynn KJ. Modelling phosphate transport and assimilation in microalgae; how much complexity is warranted? *Ecol Model*. 2000;125(2-3):145-57.
- 4- Nedjah N, Laskri N. Phosphorus removal from urban wastewater via chemical and combined treatment against eutrophication of receiving environments. *Int J Serv Sci Technol*. 2015;8(7):303-12.
- 5- Ministry of energy, Office of engineering and technical standards for water. Environmental criteria of reuse of reclaimed water and wastewater. 1st Edition. Tehran: Management and Planning Organization; 2015. [Persian]
- 6- Kendrick M. Algal bioreactors for nutrient removal and biomass production during the tertiary treatment of domestic sewage [Dissertation]. Loughborough: Loughborough University; 2011.
- 7- Boonchai R, Seo GT, Park DR, Seong CY. Microalgae photobioreactor for nitrogen and phosphorus removal from wastewater of sewage treatment plant. *Int J Biosci Biochem Bioinform*. 2012;2(6):407-10.
- 8- Larsdotter K. Microalgae for phosphorus removal from wastewater in a Nordic climate [Dissertation]. The Stockholm, Sweden; School of Biotechnology, Royal Institute of Technology; 2006.
- 9- Rothermel MC. Coupling the wastewater treatment process with Algal photobioreactor for nutrient removal and renewable resource production [Dissertation]. Pittsburgh, Pennsylvania: University of Pittsburgh; 2009.
- 10- Abdel-Raouf N, Al-Homaidan AA, Ibraheem IBM. Microalgae and wastewater treatment. *Saudi J Biol Sci*. 2012;19(3):257-75.
- 11- Strom PF. Technologies to remove phosphorus from wastewater [Dissertation]. New Brunswick, New Jersey: Rutgers University; 2006.
- 12- Sturm BSM, Lamer SL. An energy evaluation of coupling nutrient removal from wastewater with Algal biomass production. *Appl Energy*. 2011;88(10):3499-506.
- 13- Iancu P, Pleșu V, Velea S. Flue gas CO₂ capture by microalgae in photobioreactor: a sustainable technology. 15th Conference on Process Integration, Modelling and Optimization for Energy Saving and Pollution Reduction. Prague; 2012.
- 14- Mobin S, Alam F. Biofuel production from algae utilizing wastewater. 19th Australasian Fluid Mechanics Conference. Melbourne, Australia; 2014.
- 15- Krustok I, Odlare M, Truu J, Nehrenheim E. Inhibition of nitrification in municipal wastewater treating photobioreactors: effect on algal growth and nutrient uptake. *Bioresour Technol*. 2016;202:238-43.
- 16- Larsson M, Lindblom J. Algal flue gas sequestration and wastewater treatment: an industrial experiment [Dissertation]. Stockholm, Sweden: KTH Industrial Engineering and Management Machine Design; 2011.
- 17- Tam NFY, Wong YS. Wastewater nutrient removal by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus* sp. *Environ Pollut*. 1989;58(1):19-34.
- 18- Rathod H. Algae based wastewater treatment. A

جلبک اندازه‌گیری شد. در پایان روز هفتم حذف نیترات به میزان ۱۰۰٪ و حذف فسفات به میزان ۹۵٪ بود. بیشترین میزان زیست‌توده تولیدی طی هفت روز ۰/۷ گرم بر لیتر به دست آمد [33]. انجام این تحقیق از این نظر حائز اهمیت بود که فاضلاب تصفیه‌شده بدون تیمار برای رشد ریزجلبک اسپیرولینا مصرف شد. با توجه به این که در این تحقیق با افزایش غلظت فسفر به عنوان یک ماده مغذی در محیط کشت، فاکتورهای دیگری نظیر pH، دمای هوای تزریق‌شده، دمای محیط، روشنایی و سرعت هوادهی ثابت بود، در نتیجه عامل محدودکننده رشد جلبک غلظت فسفر بود و با افزایش غلظت آن سرعت تولید زیست‌توده افزایش یافت. پژوهش حاضر تنها به بررسی استفاده از دی‌اکسیدکربن هوا برای تامین منبع کربن پرداخته و همچنین کشت ریزجلبک فقط در فتوبیوراکتور با جریان منقطع صورت گرفته است. پیشنهاد می‌شود تولید ریزجلبک و حذف فسفر از فاضلاب نیمه‌تصفیه‌شده با منبع کربن حاصل از احتراق سوخت‌های فسیلی در فتوبیوراکتور با جریان پیوسته مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه حذف فسفر از فاضلاب در فتوبیوراکتور پایلوت با جریان منقطع به وسیله ریزجلبک اسپیرولینا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد در محیط کشت مصنوعی زاروک با کاهش غلظت فسفر، رشد تولید زیست‌توده و کارایی حذف فسفر کاهش می‌یابد. زیست‌توده در فتوبیوراکتور با محیط کشت حاوی فاضلاب شهری تصفیه‌شده و فاضلاب تصفیه‌شده سرویس بهداشتی تولید شد. از آنجایی که غلظت فسفر در محیط کشت زاروک بسیار بیشتر از فاضلاب شهری و سرویس بهداشتی بود رشد تولید زیست‌توده و راندمان حذف فسفر بیشتری نیز مشاهده شد. در نتیجه با کاهش غلظت فسفر تولید زیست‌توده و کارایی حذف فسفر نیز کاهش می‌یابد. با توجه به استفاده از فاضلاب تصفیه‌شده در رشد ریزجلبک، مشخص شد فتوبیوراکتورها کارایی خوبی در تولید زیست‌توده از پساب فاضلاب شهری و خانگی دارند. در این فرآیند ضمن تولید جلبک که در خوراک دام و تولید زیست‌توده و انرژی به شکل بیوگاز و بیودیزل کاربرد دارد، همزمان تصفیه پیشرفته فاضلاب به صورت حذف مواد مغذی و تثبیت دی‌اکسیدکربن هوا نیز صورت می‌گیرد.

تشکر و قدردانی: بدین وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران به جهت تصویب طرح تحقیقاتی و تامین منابع مالی و همچنین از پژوهشکده شیلات و آبریان دریای خزر برای تامین ریزجلبک اسپیرولینا تقدیر و تشکر می‌شود.

تأییدیه اخلاقی: مقاله حاضر توسط همه نویسندگان تأیید و همچنین در نشریه دیگری به زبان فارسی یا انگلیسی ارسال یا چاپ نشده است. کد اخلاق طرح پژوهش که مقاله از آن استخراج شده IR MAZUMS.REC.1396.2900 است.

تعارض منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: رمضانعلی دیانتی‌تیلکی (نویسنده اول)، روش‌شناس/نگارنده بحث (۴۰٪)، مرتضی جعفرصالحی (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه/روش‌شناس/پژوهشگر اصلی (۵۰٪)، یحیی اسفندیاری (نویسنده سوم)، پژوهشگر کمکی (۱۰٪)

منابع مالی: منابع مالی این پژوهش از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران مربوط به طرح تحقیقاتی مصوب با کد ۲۹۰۰ تامین شده است.

of phosphorus concentration and light intensity on the biomass composition of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*. *World J Microbiol Biotechnol*. 2012;28(8):2661-70.

27- Lodi A, Binaghi L, Solisio C, Converti A, Del Borghi M. Nitrate and phosphate removal by *Spirulina platensis*. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 2003;30(1):656-60.

28- Phang S, Miah MS, Yeoh BG, Hashim MA. *Spirulina* cultivation in digested sago starch factory wastewater. *J App Phycol*. 2000;12(3-5):395-400.

29- Cañizares RO, Domínguez AR. Growth of *Spirulina maxima* on swine waste. *Bioresour Technol*. 1993;45(1):73-5.

30- Markou G. Alteration of the biomass composition of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* under various amounts of limited phosphorus. *Bioresour Technol*. 2012;116:533-5.

31- Ahmad poor N, sayyadi M, Kapporchali M, Rezaee M. Removal of phosphate by microalgae from municipal wastewater effluents: Lab experiment. *JMBS*. 2015;6(2):40-50.

32- Dianati Tilaki R, Jafarsalehi M, Movahedi A. Biofixation of Carbon Dioxide from Kerosene Combustion and Biomass Production by *Spirulina*. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2019;29(172):67-79.

33- Teymouri S, Habibi A, Pajoum Shariati F, Nematzadeh GhA, Delavari Amrei H. Nitrate and Phosphate Removal from Treated Dairy Wastewater using Microalgae *Chlorella salina*. *Modares J Biotechnol*. 2019;10(2):183-6. [Persian]

Seminar Report of Master of Technology in Civil Engineering. Roorkee, Uttarakhand, India; 2014.

19- Jacob-Lopes E, Gimenes Scoparo C, Queiroz MI, Telma Teixeira Franco. Biotransformations of carbon dioxide in photobioreactors. *Energy Conver Manag*. 2010;51(5):894-900.

20- Martinez AR, Garcia NM, Romero I, Seco A, Ferrer J. Microalgae cultivation in wastewater: nutrient removal from anaerobic membrane bioreactor effluent. *Bioresour Technol*. 2012;126:247-53.

21- Anjos M, Fernandes BD, Vicente AA, Teixeira JA, Dragone G. Optimization of CO₂ bio-mitigation by *Chlorella vulgaris*. *Bioresour Technol*. 2013;139:149-54.

22- Soletto D, Binaghi L. Effects of carbon dioxide feeding rate and light intensity on the fed-batch pulse-feeding cultivation of *Spirulina platensis* in helical photobioreactor. *Biochem Eng J*. 2008;39(2):369-75.

23- Christenson L, Sims R. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. *Biotechnol Adv*. 2011;29(6):686-702.

24- American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. Eaton AD, Clesceri LS, Franson MAH, Rice EW, Greenberg AE, editors. Washington, DC: American Public Health Association; 2005.

25- Boonchai R, Seo GT, Park DR, Seong CY. Microalgae photobioreactor for nitrogen and phosphorus removal from wastewater of sewage treatment plant. *Int J Biosci Biochem Bioinformat*. 2012;2(6):407-10.

26- Markou G, Chatzipavlidis I, Georgakakis D. Effects