

کارایی جاذب‌های ارزان‌قیمت در حذف رنگزای سافرانین از آب و محیط کشت  
محسن کاظمی، الیاس ابراهیمی خرم‌آبادی، آمنه اسکندری تربقن و رضا ولی‌زاده

دوره ۴، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، صفحات ۲۶۵-۲۵۲

Vol. 4(3), Autumn 2018, 252 – 265

DOI: 10.22034/jewe.2018.147117.1278

**The Efficiency of Cheap Adsorbents in the  
Removal of Safranin Dye from Aqueous and  
Culture Medium**

Kazemi M., Ebrahimi Khorram Abadi E., Eskandari  
Torbaghan A. and Valizadeh R.



[www.jewe.ir](http://www.jewe.ir)

OPEN ACCESS

ارجاع به این مقاله: کاظمی م.، ابراهیمی خرم‌آبادی ا.، اسکندری تربقن آ. و ولی‌زاده ر. (۱۳۹۷). کارایی جاذب‌های ارزان‌قیمت در حذف رنگزای سافرانین از آب و محیط کشت. مجله محیط‌زیست و مهندسی آب، دوره ۴، شماره ۳، صفحات: ۲۶۵ – ۲۵۲.

**Citing this paper:** Kazemi M., Ebrahimi Khorram Abadi E., Eskandary Torbaghan A. and Valizadeh R. (2018). The efficiency of cheap adsorbents in the removal of safarin dye from aqueous and culture medium. J. Environ. Water Eng., 4(3), 252 – 265. DOI: 10.22034/jewe.2018.147117.1278

## کارایی جاذب‌های ارزان‌قیمت در حذف رنگزای سافرانین از آب و محیط کشت محسن کاظمی<sup>۱\*</sup>، الیاس ابراهیمی خرم‌آبادی<sup>۱</sup>، آمنه اسکندری تربقان<sup>۲</sup> و رضا ولی‌زاده<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>استادیار، گروه آموزشی علوم دامی، مجتمع آموزش عالی تربت جام، تربت جام، ایران  
<sup>۲</sup>مربی گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده علوم پزشکی تربت جام، تربت جام، ایران  
<sup>۳</sup>استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

\*نویسنده مسئول: [phd1388@gmail.com](mailto:phd1388@gmail.com)

### مقاله اصلی

تاریخ دریافت: [۱۳۹۶/۱۱/۰۵]

تاریخ بازنگری: [۱۳۹۷/۰۲/۲۱]

تاریخ پذیرش: [۱۳۹۷/۰۷/۱۸]

### چکیده

امکان آلودگی آب‌های سطحی به رنگزای سافرانین و در نتیجه مصرف آن توسط دام‌های نشخوارکننده اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. از این‌رو، اثر سافرانین به‌عنوان یک آلاینده آبی همراه با جاذب‌های ارزان‌قیمت بر فعالیت‌های تخمیری میکروارگانیسم‌های شکمبه در محیط کشت، بررسی شد. سافرانین (۰، ۵ و ۱۰ ppm) همراه با بنتونیت‌سدیم فرآوری شده و خاکستر پوست خربزه (۰، ۴ و ۴ mg) در یک محیط کشت در قالب طرح فاکتوریل ۳×۲×۳ استفاده شد. همچنین اثر این جاذب‌ها در حذف سافرانین اضافه شده به آب در زمان‌های ۳ و ۲۴ h انکوباسیون بررسی شد. بیشترین میزان حذف سافرانین از آب (در غلظت ۵ ppm) برای بنتونیت‌سدیم و خاکستر پوست خربزه به‌ترتیب برابر با ۹۰ و ۸۰٪ در زمان ۲۴ h انکوباسیون تعیین شد. با افزایش غلظت رنگزا از ۵ به ۱۰ ppm، کارایی هر دو جاذب در جذب رنگزا کاهش یافت. با افزایش سافرانین از صفر به ۱۰ ppm در محیط کشت، پتانسیل تولید گاز، تولید تجمعی گاز در زمان‌های ۱۲، ۲۴ و ۴۸ h انکوباسیون، ME، SCFA، NEI، تولید پروتئین میکروبی و OMD در مقایسه با تیمار شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد. پتانسیل تولید گاز نیز با افزایش غلظت هر دو جاذب از ۰ به ۰/۴، کاهش معنی‌داری نشان داد. مقادیر NH<sub>3</sub>-N و TVFA محیط کشت نیز با افزایش سافرانین از ۰ به ۵ ppm، کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد. در مجموع هر دو جاذب، قادر به حذف کارآمد سافرانین از محیط آب بودند، ولی به‌نظر می‌رسد کارایی بنتونیت‌سدیم در حذف رنگزا بیشتر از خاکستر باشد.

**واژه‌های کلیدی:** بنتونیت‌سدیم؛ تولید گاز؛ خاکستر پوست خربزه؛ رنگزا

## ۱- مقدمه

رنگزاهای شیمیایی از جمله مهم‌ترین ترکیبات آلاینده آب‌های سطحی بوده که به‌طور گسترده در صنایع نساجی، دباغی، کاغذسازی، پلاستیک‌سازی و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرند و این مواد به‌علت سمیت بالا، ممکن است خسارات جبران‌ناپذیری به محیط زیست و یا موجودات مصرف‌کننده وارد سازند. مواد رنگزا و رنگدانه‌های شیمیایی علاوه بر آلودگی‌های اولیه، در طی فرآیندهای شیمیایی می‌توانند به ترکیبات ثانویه بسیار خطرناک، سرطان‌زا و سمی نیز تبدیل شوند (Shariati et al. 2010). سافرانین نیز پودر قهوه‌ای متمایل به قرمز بوده که در صنایع مختلفی همچون صنایع نساجی و چرم‌سازی به‌عنوان ماده شیمیایی رنگزا کاربرد فراوان داشته و احتمال انتقال آن به آب‌های سطحی و آلوده-شدن آن‌ها و در نهایت محیط زیست، دور از انتظار نخواهد بود (Gupta et al. 2006). از طرفی احتمال مصرف چنین آب‌های آلوده برای دام‌های نشخوارکننده در برهه‌ای از زمان اجتناب‌ناپذیر می‌باشد، بنابراین، پیدا کردن روشی که بتوان جلوی این‌گونه آلودگی‌ها را گرفت، ضروری به‌نظر می‌رسد. اخیراً از چندین فرآیند جهت حذف مواد رنگی آب از جمله جداسازی غشایی، الکتروشیمیایی، انعقاد و لخته‌زایی، تجزیه‌ی فتوکاتالیستی، اکسیداسیون توسط اوزون، تصفیه بیولوژیکی و جذب سطحی استفاده شده است، اما استفاده از این روش‌ها بسیار پرهزینه بوده و در برخی موارد نیازمند به‌کارگیری نیروی کار متخصص می‌باشد. بنابراین جذب سطحی، از مهمترین روش‌های کم‌هزینه و آسان جهت حذف مواد رنگی از آب می‌باشد (Shariati et al. 2010).

از جمله رایج‌ترین مواد جاذب ارزان‌قیمت که امروزه به‌وفور از آن استفاده می‌شود، زغال فعال تهیه شده از مواد گیاهی مختلف می‌باشند. علاوه بر آن‌ها، جاذب‌های دیگری همچون پوسته تخم‌مرغ (Ghaneian et al. 2010)، بنتونیت (Zohra et al. 2008) و پودر استخوان ماهی (Ghaneian et al. 2012) برای حذف پساب رنگی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. خربزه (*Cucumis melo L.*) از جمله مهم‌ترین محصولات کشاورزی قابل کشت در منطقه تربت‌جام بوده که قابلیت تهیه خاکستر فعال از بخش‌های مختلف این گیاه پس از برداشت میوه آن وجود دارد. سطح برداشت خربزه

کشور و میزان تولید کل آن در سال زراعی ۹۳-۹۴ به‌ترتیب برابر با ۷۵۲۰۰ ha و ۱/۴۷ MT برآورد شده است و استان خراسان رضوی با دارا بودن ۴۶/۶۸٪ برداشت خربزه کل کشور، مقام اول را در بین استان‌های کشور در تولید خربزه دارا می‌باشد (Iran Annual Agricultural Statistics 2015). بنتونیت، خاک رسی حاصل از گروه کانی‌های مونتموریلونیتی و آلومینوسیلیکاتی بوده که از ظرفیت تبادل یونی بالایی برخوردار بوده و می‌تواند انواع مختلفی از کاتیون‌ها را با خود باند کند (Maxim et al. 2016). بنتونیت نیز از جمله مهم‌ترین منابع جاذب بوده که از آن به‌عنوان جاذب رنگ (Zohra et al. 2008) و Liu (2015) et al. و در خوراک دام (Kazemi et al. 2017a) و Kazemi et al. (2017b) توسط محققان بسیاری استفاده شده است و ایران با تولید تقریبی ۲/۵٪ از بنتونیت کل دنیا، سهم درخور توجهی را به‌خود اختصاص داده است (Maxim et al. 2016). همچنین یون‌های سدیم و یا کلسیم موجود در ترکیبات مونتموریلونیتی آن، باعث افزایش ظرفیت تبادل یونی می‌گردد (Murray 2005; Patel et al. 2007).

احتمال مصرف آب‌های آلوده به رنگزاهای مختلف شیمیایی از جمله سافرانین توسط دام وجود داشته و ممکن است نشخوارکنندگان سهواً و یا از روی اجبار (با توجه به کمبود منابع آبی) به مصرف این‌گونه آب‌ها روی بیاورند؛ از طرفی مطالعه‌ای در خصوص بررسی اثر مواد رنگی مختلف موجود در آب (مانند سافرانین) بر هضم، تخمیر و یا عملکرد دام‌های نشخوارکننده در ایران وجود ندارد.

بنابراین، هدف از این پژوهش تعیین اثر رنگزای سافرانین به‌عنوان یک منبع آلوده‌کننده آبی به تنهایی یا همراه با جاذب‌های ارزان‌قیمتی نظیر بنتونیت‌سدیم (بنتوفید) یا خاکستر تهیه شده از پوست خربزه (در جهت حذف رنگزای سافرانین) بر هضم و تخمیر شکمبه‌ای در یک محیط کشت آزمایشگاهی بود. همچنین کارآیی هر دو جاذب فوق در حذف رنگزای سافرانین از آب نیز بررسی شد.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۱-۲- تهیه جاذب و ماده رنگزا

بنتونیت سدیم (ترکیبی از مونت موریلونیت) از گروه ویوان با نام تجاری بنتوفید تهیه شد. نمونه بنتونیت سدیم چندین مرتبه با آب مقطر دوبار تقطیر شستشو گردید. در ادامه با استفاده از کاغذ صافی، نمونه بنتونیت، صاف و به ظروف مخصوص انتقال داده شد. ظروف حاوی نمونه بنتونیتی بلافاصله به بن‌ماری با دمای  $60^{\circ}\text{C}$  به مدت  $48\text{ h}$  تا خشک شدن کامل، انتقال داده شد. نمونه‌هایی از خربزه به صورت تصادفی از چندین مزرعه تربت‌جام جمع‌آوری گردید. سپس نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه مرکزی مجتمع آموزش عالی تربت‌جام انتقال داده شد. پس از تفکیک بخش‌های مختلف میوه خربزه، پوست آن‌ها جدا و به قطعات کوچکتر تقسیم شدند. نمونه‌ها پس از شستشو به آون با دمای  $60^{\circ}\text{C}$  به مدت  $48\text{ h}$  انتقال داده شد. نمونه‌ها پس از خروج از آون به داخل ظرف فولادی ریخته شدند. در ادامه پس از بسته شدن درب ظرف، بلافاصله به کوره با دمای  $550^{\circ}\text{C}$  به مدت  $4\text{ h}$  انتقال و خاکستر شدند (Bazrafshan et al. 2012). نمونه‌ها پس از خروج از کوره به داخل دسیکاتور انتقال داده شدند. نمونه‌ها پس از سرد شدن به داخل ظرف مخصوص انتقال داده شده و تا زمان انجام آزمایشات بعدی در ظروف سر بسته نگهداری گردیدند. سافرانین-O (با فرمول ملکولی  $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{ClN}_4$ ) از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

### ۲-۲- آزمون اندازه‌گیری قدرت جذب توسط جاذب‌ها و تولید گاز

در آزمون قدرت جذب رنگ، از سه غلظت رنگ سافرانین ( $0$ ،  $5$  و  $10\text{ ppm}$ ) همراه با دو نوع جاذب (هر کدام در سه غلظت  $0$ ،  $2$  و  $4\%$  ماده خشک نمونه انکوبه شده در محیط کشت: معادل صفر،  $4$  و  $8\text{ mg}$ ) استفاده شد. در این آزمایش، ابتدا یک محلول مادر  $1000\text{ ppm}$  از سافرانین تهیه شد و در نهایت غلظت‌های  $5$  و  $10\text{ ppm}$  از محلول مادر تهیه شد. مقدار  $10\text{ ml}$  از محلول‌های با غلظت  $5$  و یا  $10\text{ ppm}$  سافرانین در داخل لوله‌های آزمایشگاهی مخصوصی که از قبل در آن‌ها بنتونیت سدیم ( $0$ ،  $4$  و  $8\text{ mg}$ ) و یا خاکستر تهیه شده از پوست خربزه ( $0$ ،  $4$  و  $8\text{ mg}$ ) ریخته شده بود، اضافه

گردید و درب آن‌ها با درپوش‌های پلاستیکی بسته و بلافاصله به بن‌ماری با درجه حرارت  $39^{\circ}\text{C}$  (مشابه آزمون تولید گاز) برای زمان‌های  $3$  و  $24\text{ h}$  انتقال داده شدند. برای هر تیمار پنج تکرار در نظر گرفته شد. تعداد  $10$  لوله که به آن‌ها هیچ جاذبی اضافه نشده بود، با هر یک از غلظت‌های  $5$  و  $10\text{ ppm}$  سافرانین پر شدند و همزمان به داخل بن‌ماری منتقل شدند (برای هر غلظت  $5$  لوله). پس از اتمام دوره انکوباسیون، میزان جذب آن‌ها در طول موج  $530\text{ nm}$  توسط دستگاه اسپکتروفوتومتری (Photonix-Ar-2017, Iran) قرائت شد (Preethi et al. 2006). در روش تولید گاز، سافرانین نیز به‌عنوان آلاینده آبی در سه غلظت ( $0$ ،  $5$  و  $10\text{ ppm}$ ) همراه با بنتونیت سدیم (بنتوفید) فرآوری شده و خاکستر تهیه شده از پوست خربزه هر کدام در سه غلظت ( $0$ ،  $2$  و  $4\%$  ماده خشک نمونه خوراکی انکوبه شده محیط کشت: معادل  $0$ ،  $4$  و  $8\text{ mg}$ ) به یک محیط کشت آزمایشگاهی تهیه شده از مایع شکمبه گوسفند اضافه گردید. غلظت‌های تهیه شده از سافرانین ( $0$ ،  $5$  یا  $10\text{ ppm}$ ) برای محیط کشت  $30\text{ ml}$  در نظر گرفته شده بود. مایع شکمبه از سه رأس گوسفند نر اساس (NRC (2007) که شامل یونجه و کنسانتره (نسبت  $30$  به  $70$ ) بود، گرفته شد. همچنین کنسانتره مصرفی آن‌ها دارای  $2/94$  مگا کالری انرژی خام در هر  $\text{kg}$  ماده خشک و  $14\%$  پروتئین خام بود. مایع شکمبه بلافاصله بعد از کشتار این حیوانات (میانگین وزن  $45 \pm 4/5$ ) و از شکمبه آن‌ها گرفته شد. مایع شکمبه گرفته شده بلافاصله با پارچه متقال چهار لایه صاف و در فلاکس مخصوص ریخته شد و سپس به آزمایشگاه انتقال داده شد. نمونه خوراک مصرفی در محیط کشت تنها یونجه در زمان گلدهی بود. مقدار  $200\text{ mg}$  از یونجه خشک و آسیاب شده با اندازه ذرات  $1\text{ mm}$  در داخل شیشه‌های با حجم  $120\text{ ml}$  ریخته شد و سپس غلظت ( $0$ ،  $5$  و  $10\text{ ppm}$ ) مشخصی از رنگزای سافرانین (تهیه شده از محلول مادر) همراه با جاذب‌های مختلف (بنتونیت سدیم و خاکستر هر کدام به مقدار  $0$ ،  $4$  و  $8\text{ mg}$  به ترتیب معادل  $0$ ،  $2$  و  $4\%$  ماده خشک نمونه انکوبه شده در محیط کشت) در داخل شیشه‌ها ریخته شد. در ادامه پس از افزودن مایع شکمبه و بزاق مصنوعی (با نسبت یک به دو)، بلافاصله درب آن‌ها با



انرژی قابل متابولیسم (ME)، قابلیت هضم ماده آلی (OMD) و انرژی خالص شیردهی (NEL) به ترتیب بر اساس رابطه‌های (۳)، (۴) و (۵) تعیین شدند (Menke and Steingass, 1988).

$$ME \text{ (MJ/kg DM)} = 1.06 + 0.1570GP + 0.0084XP + 0.0220XL - 0.0081XA \quad (3)$$

که در این رابطه، GP معادل حجم تجمعی گاز تا زمان ۲۴ h انکوباسیون برای ۲۰۰ mg نمونه بوده و XP، XL و XA به ترتیب معادل درصد‌های پروتئین خام، چربی خام و خاکستر خام نمونه انکوبه شده در محیط کشت می‌باشند.

$$OMD \text{ (\%)} = 42.85 + 0.6766GP \quad (4)$$

که در این رابطه، GP معادل حجم تجمعی گاز تولید شده در زمان ۲۴ h انکوباسیون برای ۲۰۰ mg نمونه انکوبه شده در محیط کشت می‌باشد.

$$NEL \text{ (MJ/kg DM)} = -0.36 + 0.1149GP + 0.0054XP + 0.0139XL - 0.0054XA \quad (5)$$

که در این رابطه، GP معادل حجم کل گاز تولید شده تا زمان ۲۴ h انکوباسیون برای ۲۰۰ mg نمونه بوده و XP، XL و XA به ترتیب معادل درصد‌های پروتئین خام، چربی خام و خاکستر خام نمونه انکوبه شده در محیط کشت می‌باشند. کل اسیدهای چرب کوتاه زنجیر بر اساس رابطه (۶) محاسبه گردید (Makkar 2005).

$$SCFA \text{ (mmol/200mgDM)} = 0.0222 - 0.00425GP \quad (6)$$

که در این رابطه، GP معادل حجم تجمعی گاز تا زمان ۲۴ h انکوباسیون برای ۲۰۰ mg نمونه انکوبه شده، می‌باشد. میزان بازده پروتئین میکروبی به صورت ۱۹/۳ g نیتروژن میکروبی به ازای هر kg ماده آلی قابل هضم، گزارش گردید (Czerkawaski 1986). همچنین از یک آزمایش فاکتوریل ۳×۲×۳ (عامل اول سه غلظت سافرانین، عامل دوم دو نوع جاذب شامل بنتونیت سدیم و خاکستر تهیه شده از پوست خربزه و عامل سوم سه غلظت جاذب) با طرح پایه کاملاً تصادفی و بر اساس مدل رابطه (۷) استفاده شد:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + C_k + AC_{ik} + BC_{jk} + ABC_{ijk} + \varepsilon_{ijk} \quad (7)$$

درپوش‌های لاستیکی بسته شد و توسط کریمر، درب‌های آن‌ها پلمپ شدند. در نهایت شیشه‌ها به بن‌ماری با دمای °C ۳۹ برای زمان‌های ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ h انتقال داده شدند. میزان فشار گاز در زمان‌های فوق به کمک فشارسنج دیجیتالی (PTB330, Env Company, UK) ثبت گردید و بر اساس روش (Theodorou et al. 1994) همزمان میزان حجم گاز تولید شده اندازه‌گیری و ثبت شد. محلول محیط کشت (شامل بزاق مصنوعی و مایع شکمبه) بر اساس روش (Menke and Steingass 1988) تهیه شد. برای هر تیمار پنج تکرار در نظر گرفته شد. از یک محیط کشت مشابه آزمایش گاز برای تعیین میزان pH، نیتروژن آمونیاکی (NH<sub>3</sub>-N) و کل اسیدهای چرب فرار (TVFA) در زمان ۲۴ h انکوباسیون استفاده شد. برای جلوگیری از تجمع گاز، گاز درون هر یک از شیشه‌ها توسط سرسرنج مخصوص تخلیه شد تا اثر منفی بر فعالیت‌های تخمیری میکروارگانیسم‌های محیط کشت نگذارد. میزان کل اسیدهای چرب فرار با دستگاه مارخام و به روش (Barnett and Reid 1957) اندازه‌گیری شد. میزان نیتروژن آمونیاکی محیط کشت نیز بر اساس روش کجلدال اندازه‌گیری شد (Komolong et al. 2001).

### ۲-۳- برآوردها و آنالیز آماری

درصد حذف رنگ سافرانین (R) با توجه به رابطه (۱) تعیین شد.

$$R\% = [C_i - C_f / C_i] \times 100 \quad (1)$$

که در رابطه (۱)، C<sub>f</sub> و C<sub>i</sub> به ترتیب غلظت اولیه و نهایی رنگزا (پس از جذب) می‌باشد (Mousavi et al. 2016). نمودارهای مربوط به حذف رنگزای سافرانین در حضور جاذب‌ها به کمک نرم‌افزار Excel (2007) تهیه شد. داده‌های تولید گاز نیز بر اساس رابطه (۲) مورد برازش قرار گرفت (Ørskov and McDonald 1979):

$$Y = b(1 - e^{-ct}) \quad (2)$$

که Y برابر حجم گاز تولیدی در زمان t، b برابر تولید گاز از بخش نامحلول ولی قابل تخمیر پس از ۱۲۰ h انکوباسیون (ml به ازای ۲۰۰ mg DM)، c برابر با ثابت نرخ تولید گاز برای b (ml در h) و t معادل زمان انکوباسیون (h) می‌باشد.

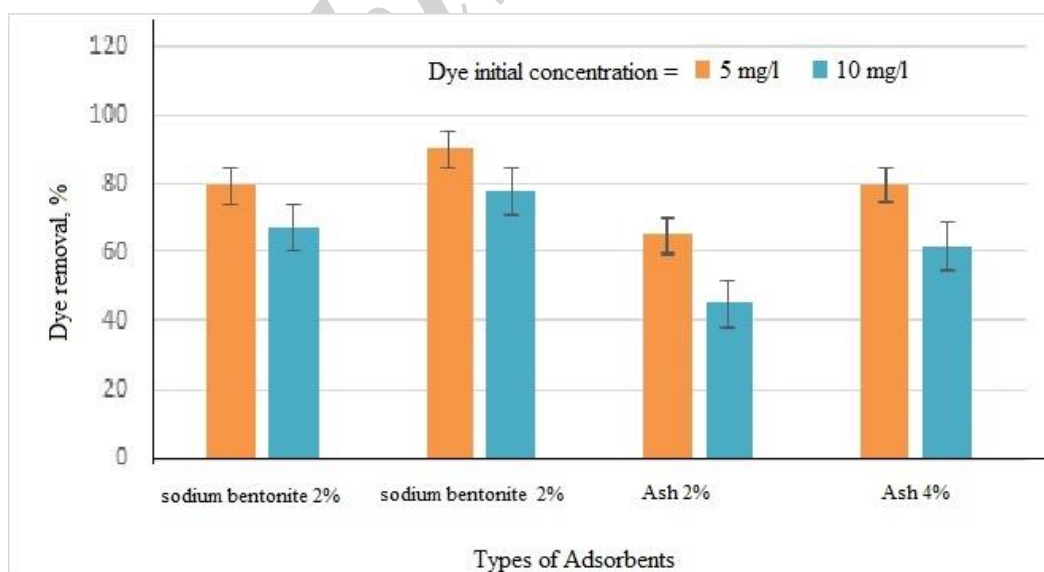
سافرانین نسبت به غلظت ۲٪ آن در زمان ۳ h انکوباسیون، بیشتر بود. همچنین بنتونیت سدیم در مقایسه با خاکستر، کارایی بیشتری در حذف رنگزای سافرانین از آب داشت. نتایج مطالعه‌ای نشان داد که خاکستر فعال تهیه شده از برگ درخت انگور، قابلیت حذف رنگ متیلن بلو در محیط آب مقطر را به صورت ۱۰۰٪ دارا می‌باشد (Mousavi et al. 2016). در مطالعه دیگری نیز مشخص گردید که خاکستر ساقه گیاه پرسیکا می‌تواند به‌نحو مؤثر و کارآمدی جهت حذف رنگ متیلن بلو از محلول‌های آبی مورد استفاده قرار گیرد (Bazrafshan and Kord Mostafapour 2012). در مطالعه حاضر (شکل ۱) نیز هر دو جاذب بنتونیت سدیم و خاکستر تهیه شده از پوست خربزه به‌طور مؤثری باعث کاهش رنگ سافرانین در محیط آبی شدند و غلظت رنگ و نوع جاذب هر یک به‌تنهایی تأثیر متفاوتی در حذف رنگ سافرانین را داشته به‌طوری‌که بیشترین جذب رنگ سافرانین در اثر کاربرد سطوح ۲ و ۴٪ بنتونیت سدیم مشاهده شد (شکل ۱). پتانسیل جذب رنگزا با کاربرد مقادیر مختلف جاذب و نوع جاذب، تغییر خواهد نمود (Bazrafshan and Kord Mostafapour 2012).

که در این مدل، مقدار هر مشاهده،  $Y_{ijk}$  = مقدار هر مشاهده،  $\mu$  = میانگین پارامتر مورد مطالعه،  $A_i$  = اثر سطوح رنگزای سافرانین،  $B_j$  = اثر نوع جاذب،  $(AB)_{ij}$  = اثر متقابل سطوح رنگ و نوع جاذب،  $C_k$  = اثر سطوح جاذب،  $AC_{ik}$  = اثر متقابل سطوح رنگزای سافرانین و سطوح جاذب،  $BC_{jk}$  = اثر متقابل نوع جاذب و سطوح جاذب،  $ABC_{ijk}$  = اثر متقابل بین سطوح رنگزای سافرانین، نوع جاذب و سطوح جاذب بوده و  $\varepsilon_{ijk}$  معادل خطای آزمایشی بود. اختلاف آماری بین تیمارها با روش توکی در غلظت احتمال ۵٪ با استفاده از نرم افزار (2002) SAS (نسخه ۹/۱) تعیین شد.

### ۳- یافته‌ها و بحث

#### ۳-۱- آزمون جذب رنگ توسط جاذب‌ها

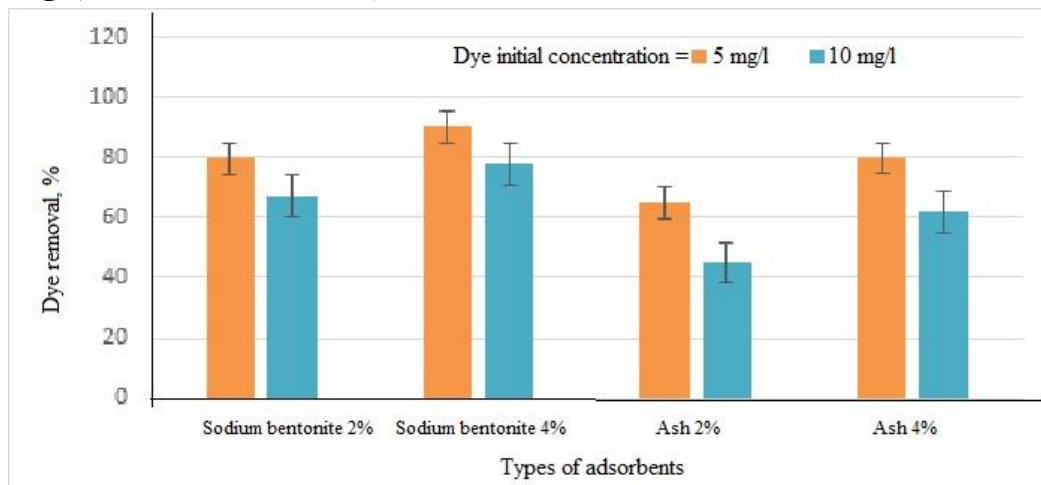
درصد حذف رنگ سافرانین موجود در محیط آب توسط خاکستر فعال تهیه شده از پوست خربزه و بنتونیت سدیم در زمان ۳ h انکوباسیون در شکل (۱) نشان داده شده است. بیشترین درصد حذف رنگ سافرانین در هر دو سطوح ۵ و ۱۰ ppm مربوط به استفاده از بنتونیت سدیم در غلظت ۴٪ بود و نیز بررسی شکل (۱)، نشان دهنده عملکرد متفاوت سطوح ۲ و ۴٪ بنتونیت سدیم در حذف رنگزای سافرانین بود. کارایی غلظت ۴٪ خاکستر پوست خربزه در حذف رنگزای



شکل ۱-- درصد حذف رنگزای سافرانین موجود در محیط آب توسط خاکستر تهیه شده از پوست خربزه و بنتونیت سدیم در زمان ۳ h انکوباسیون  
Fig. 1 The removal percentage of safranin dye in water by the melon peel ash and sodium bentonite during 3 h incubation

Bazrafshan and Kord Mostafapour (2016). مطالعه (2012) نشان داد که با افزایش دوز جاذب (خاکستر ساقه گیاه پرسیکا) از ۰/۲ به ۳ g، راندمان حذف ماده رنگزا افزایش یافته به طوری که حداکثر جذب ۹۶/۱۱٪ بوده که دلیل آن افزایش تعداد جایگاه جذب با افزایش غلظت جاذب عنوان شده است که در تطابق با مطالعه حاضر برای خاکستر تهیه شده از پوست خربزه و یا بنتونیت سدیم می‌باشد.

در مطالعه حاضر، افزایش غلظت خاکستر تهیه شده از پوست خربزه و یا بنتونیت سدیم از ۲ به ۴٪ در محیط آبی آلوده به سافرانین تا زمان ۳ h انکوباسیون، منجر به افزایش راندمان حذف رنگزا گردید و این نشان‌دهنده این مطلب است که در محیط آبی با افزایش تعداد جایگاه‌های جذبی، امکان برخورد بین جاذب و جذب شونده بیشتر شده و منجر به افزایش درصد جذب و یا حذف رنگزا خواهد شد (Mousavi et al.).



شکل ۲-۱. درصد حذف رنگ سافرانین موجود در محیط آب توسط خاکستر تهیه شده از پوست خربزه و بنتونیت سدیم در زمان ۲۴ h انکوباسیون  
Fig. 2 The removal percentage of safranin in water by the melon peel ash and sodium bentonite during 24 h incubation

که دلیل آن سرعت جذب بالاتر در زمان‌های ابتدایی است و با گذر زمان و اشغال شدن نقاط فعال سطح جاذب، سرعت جذب کاهش یافته تا اینکه در یک زمان مشخص این مقدار ثابت می‌گردد (Mousavi et al. 2016). ولی با مقایسه دو شکل (۱) و (۲) در مطالعه اخیر نیز مشخص می‌گردد که درصد حذف رنگزا توسط بنتونیت سدیم و یا خاکستر تهیه شده از پوست خربزه در زمان ۲۴ h انکوباسیون، نسبت به زمان ۳ h انکوباسیون تقریباً مشابه بود. با افزایش غلظت اولیه رنگزا، میزان حذف رنگزا کاهش یافت، که این کاهش ممکن است به دلیل کاهش تعداد سایت‌های فعال جاذب در غلظت‌های بالای رنگزا باشد (Mousavi et al. 2016). از طرفی با توجه به اشکال (۱) و (۲)، با افزایش غلظت سافرانین از ۵ به ۱۰ ppm، درصد حذف رنگزا توسط خاکستر تهیه شده از پوست خربزه بر خلاف بنتونیت، کاهش محسوسی نشان داد. به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر تعداد جایگاه‌های جذب رنگزای موجود در خاکستر و بنتونیت سدیم در اثر بالا

درصد حذف رنگزای سافرانین موجود در محیط آب توسط خاکستر تهیه شده از پوست خربزه و بنتونیت سدیم در زمان ۲۴ h انکوباسیون در شکل (۲) نشان داده شده است. با توجه به این شکل، بیشترین درصد حذف رنگزای سافرانین در غلظت ۵ و ۱۰ ppm هر دو نیز مربوط به استفاده از غلظت ۴٪ بنتونیت سدیم بود، هر چند که غلظت ۲٪ بنتونیت سدیم نیز از لحاظ درصد حذف رنگزا نیز با غلظت ۴٪ آن متفاوت بود (شکل ۲). اضافه کردن زغال فعال و پوسته برنج در محیط آبی دارای سافرانین، منجر به کاهش چشمگیر این رنگزا در آب شد (Gupta et al. 2006). در آزمایش (Zohra (2008) et al.، مقادیر زیادی از رنگزای مستقیم قرمز ۲، جذب بنتونیت اصلاح شده گردید. همچنین Dincer et al. (2007)، میزان حذف دو رنگزای آبی ۴۹ و نارنجی ۱۳ را با استفاده از ضایعات خاکستر زغال به ترتیب ۱۳/۵۱ و ۴/۵۴ از جاذب گزارش نمودند. گزارش شده است که بیشترین میزان جذب در دقایق اولیه انکوباسیون رخ می‌دهد

al. نشان دادند که با افزایش غلظت اولیه رنگزای راکتیو، راندمان حذف آن توسط کیتوزان کاهش پیدا می‌کند. آن‌ها این کاهش را به این نسبت دادند که در یک دوز مشخص از کیتوزان، جایگاه‌های جذب موجود، ثابت و محدود می‌شوند.

بردن غلظت رنگ در آب، کاهش محسوسی داشته است، ولی با توجه به ساختار مونتموریلونیتی و چند لایه‌ای بنتونیت، افزایش غلظت سافرانین از ۵ به ۱۰ ppm، تأثیر کمتری بر کاهش تعداد جایگاه‌های جذبی بنتونیت نسبت به خاکستر داشته است. در مطالعه‌ای دیگر نیز (Sreelatha et 2011)

جدول ۱- اثر سافرانین همراه و یا بدون کاربرد جاذب بر تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی

Table 1 Effect of safranin with or without adsorbent on gas production in laboratory conditions

Treatment	Gas 12h (ml) <sup>3</sup>	Gas 24h (ml) <sup>4</sup>	Gas 48h (ml) <sup>5</sup>	B <sub>gas</sub> (ml) <sup>2</sup>	C <sub>gas</sub> (ml/h) <sup>1</sup>
Control	37.76 <sup>a</sup>	48.79 <sup>a</sup>	55.45 <sup>a</sup>	59.04 <sup>a</sup>	0.09 <sup>a</sup>
Control+2%SB <sup>6</sup>	35.37 <sup>b</sup>	46.03 <sup>b</sup>	52.88 <sup>b</sup>	57.33 <sup>ab</sup>	0.08 <sup>bcde</sup>
Control+4%SB	35.04 <sup>bc</sup>	45.15 <sup>bc</sup>	51.56 <sup>bcd</sup>	55.46 <sup>bc</sup>	0.084 <sup>abc</sup>
Control+2% Ash <sup>7</sup>	32.94 <sup>dc</sup>	42.64 <sup>c</sup>	49.13 <sup>d</sup>	53.53 <sup>c</sup>	0.08 <sup>bcde</sup>
Control+4% Ash	28.23 <sup>f</sup>	37.37 <sup>d</sup>	43.38 <sup>ef</sup>	48.26 <sup>de</sup>	0.071 <sup>e</sup>
5ppm Safranin	34.49 <sup>bc</sup>	44.19 <sup>bc</sup>	50.78 <sup>bcd</sup>	55.35 <sup>bc</sup>	0.08 <sup>bcde</sup>
5ppm Safranin+2%SB	35.74 <sup>ab</sup>	45.74 <sup>b</sup>	52.15 <sup>bc</sup>	59.00 <sup>a</sup>	0.081 <sup>bde</sup>
5ppm Safranin+4%SB	34.34 <sup>bc</sup>	43.34 <sup>bc</sup>	50.08 <sup>cd</sup>	54.79 <sup>bc</sup>	0.079 <sup>bcde</sup>
5ppm Safranin+2% Ash	32.94 <sup>dc</sup>	42.49 <sup>c</sup>	49.16 <sup>d</sup>	54.22 <sup>c</sup>	0.073 <sup>de</sup>
5ppm Safranin+4% Ash	30.81 <sup>de</sup>	39.88 <sup>d</sup>	45.74 <sup>e</sup>	50.49 <sup>d</sup>	0.076 <sup>cde</sup>
10ppm Safranin	31.28 <sup>de</sup>	39.18 <sup>d</sup>	44.08 <sup>ef</sup>	48.15 <sup>de</sup>	0.085 <sup>ab</sup>
10ppm Safranin+2%SB	30.18 <sup>ef</sup>	37.45 <sup>d</sup>	42.35 <sup>f</sup>	46.25 <sup>e</sup>	0.086 <sup>ab</sup>
10ppm Safranin+4%SB	31.28 <sup>de</sup>	37.30 <sup>d</sup>	41.68 <sup>f</sup>	46.00 <sup>e</sup>	0.082 <sup>abcd</sup>
10ppm Safranin+2% Ash	24.91 <sup>g</sup>	31.78 <sup>e</sup>	36.60 <sup>g</sup>	40.99 <sup>f</sup>	0.075 <sup>cde</sup>
10ppm Safranin+4% Ash	20.53 <sup>h</sup>	26.36 <sup>f</sup>	38.83 <sup>h</sup>	33.69 <sup>g</sup>	0.074 <sup>de</sup>
SEM <sup>8</sup>	0.72	0.86	0.83	0.89	0.003
P-value of DL <sup>9</sup>	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.022
P-value of AT <sup>10</sup>	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0007
P-value of DL×AT	0.0137	0.0061	0.0001	0.02	0.61
P-value of AL <sup>11</sup>	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
P-value of DL×AL	<0.0001	0.0002	<0.0001	<0.0001	0.15
P-value of AT×AL	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.038
P-value of DL×AT×AL	0.106	0.043	0.014	0.018	0.18

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها می‌باشد (p<0/05).

<sup>1</sup>نرخ (C<sub>gas</sub>:ml/h) و <sup>2</sup>پتانسیل تولید گاز (b<sub>gas</sub>: ml/200mgDM) حاصل از محیط کشت می‌باشند؛ <sup>3</sup>Gas 12h، <sup>4</sup>Gas 24h، <sup>5</sup>Gas 48h به ترتیب گاز تجمعی تولید شده در زمان ۱۲، ۲۴ و ۴۸ h انکوباسیون از محیط کشت می‌باشند.

<sup>6</sup>SB=Sodium Bentonite; <sup>7</sup> Ash = Ash prepared from melon peel; <sup>8</sup>SEM= Standard Error of the Mean; <sup>9</sup>DL=Dye Levels;

<sup>10</sup>AT=Absorbance type; <sup>11</sup>AL=Absorbance Levels

در مقایسه با تیمار شاهد شد. همچنین ثابت نرخ تولید گاز (C<sub>gas</sub>) در غلظت ۵ ppm در مقایسه با تیمار شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد (p<0/05). اضافه کردن جاذب‌های خاکستر تهیه شده از پوست خربزه و بنتونیت سدیم هر کدام به تنهایی منجر به کاهش معنی‌دار پتانسیل تولید گاز و تولید تجمعی گاز در زمان‌های ۱۲، ۲۴ و ۴۸ h انکوباسیون شد. اضافه کردن هر دو جاذب به محیط کشت آلوده به سافرانین

### ۳-۲- آزمایش تولید گاز

اثر سافرانین همراه و یا بدون کاربرد جاذب بر تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی در جدول (۱) آورده شده است. استفاده از سافرانین در سطوح ۵ و ۱۰ ppm در محیط کشت، منجر به کاهش معنی‌دار پتانسیل تولید گاز (B<sub>gas</sub>) و نیز گاز تجمعی تولید شده در زمان‌های ۱۲، ۲۴ و ۴۸ h انکوباسیون



به سافرانین نه فقط موجب افزایش پارامترهای تخمین زده شده در جدول (۲) نشد بلکه منجر به کاهش بیشتر آن‌ها در محیط کشت نیز گردید. تمام اثرات متقابل گزارش شده در جدول (۲) برای کلیه پارامترهای گزارش شده در این جدول معنی‌دار گردید. مطالعه‌ای مبنی بر تعیین اثرات رنگزاهای مختلف شیمیایی از جمله سافرانین در محیط کشت گزارش نشده است. گزارش شده است که زغال فعال باعث جذب بسیاری از سموم شده (Levy 1982) و در برخی موارد منجر به کاهش ترکیبات سمی در گیاهان می‌گردد (Poage et al. 2000). در مطالعه اخیر چون کلیه پارامترهای گزارش شده در جدول (۲) بر اساس گاز تولید شده در زمان ۲۴ h انکوباسیون تخمین زده شده بود، بنابراین هر عاملی که گاز تولید شده در این زمان را تحت تأثیر خود قرار دهد، قطعاً بر روی این پارامترها تأثیرگذار خواهد بود. از این‌رو، علت کاهش کلیه پارامترهای جدول (۲) در اثر افزودن بنتونیت سدیم به محیط کشت، در مقایسه با تیمار شاهد ناشی از کاهش تولید گاز در زمان ۲۴ h انکوباسیون می‌باشد. از طرفی در توافق با نتایج آزمایش حاضر، افزودن بنتونیت به محیط کشت، منجر به کاهش پتانسیل تولید گاز شد که شاید بخشی از کاهش تولید گاز مربوط به کاهش در اختیار قرار دادن سوبسترای تخمیر شده برای میکروارگانیسم‌های تولید کننده گاز به دلیل جذب آن‌ها توسط بنتونیت باشد (Kazemi et al. 2013). از طرفی بنتونیت قادر به جذب یکی از سوبستراهای تخمیری (نیتروژن آمونیاکی) در محیط کشت نیز می‌باشد (Kazemi et al. 2013). علیرغم اینکه پارامترهای گزارش شده در جدول (۱) در اثر افزودن بنتونیت به محیط کشت کاهش یافت ولی در عوض در مطالعات انجام شده بر روی گوسفندان بلوچی، مشخص شد که استفاده از بنتونیت سدیم در جیره منجر به افزایش قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در مقایسه با تیمار شاهد می‌شود (Kazemi et al. 2017a). نتایج اثرات متقابل جدول (۲) نشان می‌دهد که استفاده توأم سطوح مختلف جاذب‌های خاکستر فعال تهیه شده از پوست خریده و یا بنتونیت سدیم (مخصوصاً خاکستر) همراه با سطوح مختلف سافرانین به‌ویژه در سطوح بالا (۱۰ ppm) منجر به کاهش بیشتر پارامترهای برآورد شده در این جدول گردید.

نه تنها موجب افزایش پتانسیل تولید گاز نشد بلکه منجر به کاهش بیشتر آن در محیط کشت نیز گردید. اثر متقابل بین سطوح رنگ و سطوح جاذب و نیز اثر متقابل بین سطوح رنگزا و نوع جاذب برای پتانسیل تولید گاز (B<sub>gas</sub>) و نیز تولید تجمعی گاز در زمان‌های ۱۲، ۲۴ و ۴۸ h انکوباسیون، معنی‌دار شد. اثر متقابل بین نوع جاذب و سطوح جاذب برای کلیه پارامترهای جدول (۱) معنی‌دار شد و نیز اثر متقابل بین سطوح رنگزا، نوع جاذب و غلظت جاذب تنها برای پتانسیل تولید گاز و گاز تجمعی تولید شده در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ h انکوباسیون، معنی‌دار گردید. با توجه به اینکه آزمون تولید گاز در محیط کشت آزمایشگاهی یک آزمون شبیه‌سازی شده شکمبه‌ای می‌باشد، بنابراین مصرف غیرمنتظره آب‌های آلوده می‌تواند بر فعالیت تخمیری میکروارگانیسم‌های شکمبه حیوانات نشخوارکننده اثرات منفی داشته و در نهایت منجر به کاهش تولید گاز شوند، کمالینکه در این مطالعه اثر منفی سافرانین بر فراسنجه‌های تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی تأیید شد. تاکنون مطالعه‌ای دال بر استفاده و تأثیرگذاری سافرانین در محیط کشت تهیه شده از مایع شکمبه دام‌های نشخوارکننده گزارش نشده است. اما در مطالعه حاضر کاهش سطح گاز تولید شده در اثر کاربرد سافرانین در محیط کشت مشهود بود. بنتونیت از دسته کانی‌های رسی بوده که برای افزایش عملکرد نشخوارکنندگان به دلیل ظرفیت بافری آن و نیز ظرفیت تبادل یونی بالای آن به‌وفور استفاده می‌شود (Lee et al. 2010). اضافه کردن بنتونیت سدیم به میزان دو درصد ماده خشک بکار برده شده در محیط کشت، منجر به کاهش تولید گاز و نیتروژن آمونیاکی در مقایسه با تیمار شاهد شد (Kazemi et al. 2013)، ولی تجزیه‌پذیری ماده خشک در محیط کشت تغییری ننمود.

اثر سافرانین همراه و یا بدون کاربرد جاذب بر پارامترهای تخمین زده شده از تولید گاز در جدول (۲) آورده شده است. استفاده از سافرانین در سطوح ۵ و ۱۰ ppm در محیط کشت، منجر به کاهش معنی‌دار ME، NEI، SCFA، OMD و MPY شد. همچنین اضافه کردن دو جاذب خاکستر تهیه شده از پوست خریده و بنتونیت سدیم هرکدام به‌تنهایی منجر به کاهش معنی‌دار ME، NEI، SCFA، OMD و MPY شد، بنابراین اضافه کردن هر دو جاذب به محیط کشت آلوده

جدول ۲- اثر سافرانین همراه و یا بدون کاربرد جاذب بر پارامترهای تخمین زده شده از تولید گاز

Table 2 The effect of safranin with or without adsorbent application on the estimated parameters of gas production

Treatment	ME <sup>1</sup> (MJ/kg DM)	NEI <sup>2</sup> (MJ/kg DM)	SCFA <sup>3</sup> (mmol)	OMD <sup>4</sup> (%)	MPY <sup>5</sup> (g/kg OMD)
Control	8.80 <sup>a</sup>	5.29 <sup>a</sup>	1.079 <sup>a</sup>	75.86 <sup>a</sup>	16.64 <sup>a</sup>
Control+2%SB <sup>6</sup>	8.37 <sup>b</sup>	4.98 <sup>b</sup>	1.018 <sup>b</sup>	73.99 <sup>b</sup>	14.28 <sup>b</sup>
Control+4%SB	8.23 <sup>bc</sup>	4.88 <sup>bc</sup>	0.998 <sup>bc</sup>	73.40 <sup>bc</sup>	14.16 <sup>bc</sup>
Control+2% Ash <sup>7</sup>	7.84 <sup>c</sup>	4.59 <sup>c</sup>	0.940 <sup>c</sup>	71.70 <sup>c</sup>	13.84 <sup>c</sup>
Control+4% Ash	7.01 <sup>d</sup>	3.98 <sup>d</sup>	0.825 <sup>d</sup>	68.14 <sup>d</sup>	13.15 <sup>d</sup>
5ppm Safranin	8.08 <sup>bc</sup>	4.77 <sup>bc</sup>	0.977 <sup>bc</sup>	72.75 <sup>bc</sup>	14.04 <sup>bc</sup>
5ppm Safranin+2%SB	8.32 <sup>b</sup>	4.94 <sup>b</sup>	1.010 <sup>b</sup>	73.79 <sup>b</sup>	14.24 <sup>b</sup>
5ppm Safranin+4%SB	7.95 <sup>bc</sup>	4.67 <sup>bc</sup>	0.958 <sup>bc</sup>	72.17 <sup>bc</sup>	13.93 <sup>bc</sup>
5ppm Safranin+2% Ash	7.81 <sup>c</sup>	4.57 <sup>c</sup>	0.939 <sup>c</sup>	71.60 <sup>c</sup>	13.82 <sup>c</sup>
5ppm Safranin+4% Ash	7.40 <sup>d</sup>	4.27 <sup>d</sup>	0.881 <sup>d</sup>	69.83 <sup>d</sup>	13.48 <sup>d</sup>
5ppm Safranin	7.29 <sup>d</sup>	4.19 <sup>d</sup>	0.865 <sup>d</sup>	69.36 <sup>d</sup>	13.39 <sup>d</sup>
10ppm Safranin+2%SB	7.02 <sup>d</sup>	3.99 <sup>d</sup>	0.827 <sup>d</sup>	68.19 <sup>d</sup>	13.16 <sup>d</sup>
10ppm Safranin+4%SB	7.00 <sup>d</sup>	3.97 <sup>d</sup>	0.824 <sup>d</sup>	68.09 <sup>d</sup>	13.14 <sup>d</sup>
10ppm Safranin+2% Ash	6.13 <sup>e</sup>	3.34 <sup>e</sup>	0.701 <sup>e</sup>	64.35 <sup>e</sup>	12.42 <sup>e</sup>
10ppm Safranin+4% Ash	5.28 <sup>f</sup>	2.72 <sup>f</sup>	0.581 <sup>f</sup>	60.69 <sup>f</sup>	11.71 <sup>f</sup>
SEM <sup>8</sup>	0.13	0.098	0.02	0.58	0.11
P-value of DL <sup>9</sup>	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
P-value of AT <sup>10</sup>	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
P-value of DL×AT	0.0061	0.0061	0.0061	0.0061	0.0061
P-value of AL <sup>11</sup>	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
P-value of DL×AL	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
P-value of AT×AL	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
P-value of DL×AT×AL	0.0435	0.0435	0.0435	0.0435	0.0435

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر معنی دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها می‌باشد (p<0.05).

<sup>1</sup>ME (MJ/kg DM)=(مگاژول/کیلوگرم ماده خشک); <sup>2</sup>NEI (MJ/kg DM)=انرژی قابل متابولیسم (مگاژول/کیلوگرم ماده خشک); <sup>3</sup>SCFA (mmol)=(میلی مول); <sup>4</sup>OMD (%)=(درصد); <sup>5</sup>MPY (g/kg) تجزیه پذیری ماده آلی (درصد); <sup>6</sup>SB=Sodium Bentonite; <sup>7</sup>Ash = Ash prepared from melon peel; <sup>8</sup>SEM= Standard Error of the Mean; <sup>9</sup>DL=Dye Levels; <sup>10</sup>AT=Absorbance type; <sup>11</sup>AL=Absorbance Levels

آمونیاکی با افزایش سافرانین از ۵ به ۱۰ ppm، کاهش معنی داری نشان داد (P<0.0001). اثرات متقابل بین نوع جاذب و غلظت جاذب، اثرات متقابل بین غلظت رنگ و نوع جاذب و نیز اثرات متقابل بین غلظت رنگ و غلظت جاذب تنها برای کل اسیدهای چرب فرار محیط کشت معنی دار شد. با افزایش غلظت بنتونیت سدیم به محیط کشت، کل اسیدهای چرب فرار در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی داری نشان داد (P<0.05). استفاده از سطوح مختلف هر یک از جاذب‌ها (به‌ویژه در غلظت ۰.۴٪) همراه با سطوح مختلف سافرانین، نیز

اثر سافرانین همراه و یا بدون کاربرد جاذب بر غلظت کل اسیدهای چرب فرار، نیتروژن آمونیاکی و pH محیط کشت در جدول (۳) آورده شده است. هیچگونه اختلاف آماری معنی داری در بین تیمارهای آزمایشی برای pH مشاهده نشد اما با افزایش غلظت رنگ از صفر به ۵ ppm، کل اسیدهای چرب فرار (TVFA) و نیتروژن آمونیاکی محیط کشت، کاهش معنی داری را نشان داد (P<0.0001) و هیچگونه اختلاف معنی داری برای کل اسیدهای چرب فرار بین سطوح ۵ و ۱۰ ppm رنگزا مشاهده نشد ولی غلظت نیتروژن

زندگی میکروارگانیسم‌ها و پتانسیل تولید گاز در محیط کشت، می‌تواند الگوی تخمیر را دستخوش تغییرات جدی نماید. کما این‌که در مطالعه حاضر نیز با افزایش غلظت سافرانین از صفر به ۵ ppm در محیط کشت، غلظت نیتروژن آمونیایی و کل اسیدهای چرب فرار در مقایسه با تیمار شاهد، کاهش معنی‌داری نشان دادند.

منجر به افزایش معنی‌دار کل اسیدهای چرب فرار محیط کشت شد ( $P < 0.001$ ). شکمبه به‌عنوان یک مخزن تخمیری بزرگ، قادر به تولید محصولات نهایی تخمیر از قبیل اسیدهای چرب فرار، نیتروژن آمونیایی و پروتئین میکروبی برای برطرف کردن نیازهای انرژی و پروتئینی حیوان میزبان خواهد بود، بنابراین به‌نظر می‌رسد هر گونه تغییر در شرایط

جدول ۳- اثر سافرانین همراه و یا بدون کاربرد جاذب بر کل اسیدهای چرب فرار، نیتروژن آمونیایی و pH محیط کشت

Table 1 Effect of safranin with or without adsorbent on total volatile fatty acids, ammonia nitrogen and pH of media

Treatment	TVFA <sup>7</sup> (mmol/l)	NH <sub>3</sub> -N <sup>8</sup> (mg/dl)	pH
Control	69.12 <sup>cdef</sup>	15.43 <sup>a</sup>	6.47
Control+2%SB <sup>1</sup>	70.87 <sup>ab</sup>	14.23 <sup>abc</sup>	6.51
Control+4%SB	71.85 <sup>a</sup>	13.95 <sup>abc</sup>	6.53
Control+2% Ash <sup>2</sup>	68.80 <sup>defg</sup>	13.82 <sup>abc</sup>	6.48
Control+4% Ash	69.12 <sup>cdef</sup>	12.95 <sup>dc</sup>	6.46
5ppm Safranin	65.82 <sup>i</sup>	12.90 <sup>cde</sup>	6.55
5ppm Safranin+2%SB	69.37 <sup>cde</sup>	11.18 <sup>def</sup>	6.53
5ppm Safranin+4%SB	71.10 <sup>a</sup>	10.50 <sup>f</sup>	6.48
5ppm Safranin+2% Ash	68.20 <sup>defg</sup>	11.25 <sup>def</sup>	6.50
5ppm Safranin+4% Ash	71.45 <sup>a</sup>	10.35 <sup>f</sup>	6.60
10ppm Safranin	65.45 <sup>i</sup>	11.49 <sup>def</sup>	6.62
10ppm Safranin+2%SB	66.27 <sup>hi</sup>	11.13 <sup>def</sup>	6.56
10ppm Safranin+4%SB	68.70 <sup>defg</sup>	11.02 <sup>ef</sup>	6.53
10ppm Safranin+2% Ash	65.50 <sup>i</sup>	11.82 <sup>def</sup>	6.52
10ppm Safranin+4% Ash	67.35 <sup>gh</sup>	10.79 <sup>f</sup>	6.48
SEM <sup>3</sup>	0.42	0.52	0.03
P-value of DL <sup>4</sup>	<0.0001	<0.0001	0.03
P-value of AT <sup>5</sup>	0.01	0.51	0.60
P-value of DL×AT	0.005	0.75	0.55
P-value of AL <sup>6</sup>	<0.0001	<0.0001	0.25
P-value of DL×AL	<0.0001	0.25	0.45
P-value of AT×AL	<0.0001	0.51	0.72
P-value of DL×AT×AL	0.07	0.88	0.65

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup>SB=Sodium Bentonite; <sup>2</sup>Ash=Ash prepared from melon peel; <sup>3</sup>SEM=Standard Error of the Mean; <sup>4</sup>DL=Dye Levels; <sup>5</sup>AT=Absorbance type; <sup>6</sup>AL=Absorbance Levels; <sup>7</sup>TVFA=Total volatile fatty acids; NH<sub>3</sub>-N=Ammonia nitrogen

نداشت. نشان داده شده است که بنتونیت می‌تواند الگوی تخمیر شکمبه‌ای را تغییر داده و نیز ممکن است به‌عنوان یک بافر از کاهش ناگهانی pH شکمبه جلوگیری کند (Kazemi et al. 2013). غلظت نیتروژن آمونیایی در این مطالعه تحت تأثیر غلظت هر یک از جاذب‌ها به‌ویژه زغال فعال در غلظت

در آزمایش حاضر، افزودن خاکستر تهیه شده از پوست خربزه به محیط کشت در هر دو غلظت ۲ و ۴٪، تأثیری بر مقدار TVFA در مقایسه با تیمار شاهد نداشت. افزودن بنتونیت سدیم، خاکستر و یا سافرانین هر کدام به‌تنهایی یا همراه با رنگ مورد مطالعه، تأثیری بر pH محیط کشت

- ۱- افزایش غلظت سافرانین از ۰ به ۱۰ ppm در محیط کشت منجر به کاهش کلیه پارامترهای تخمیری و فراسنجه‌های تولید گاز مورد مطالعه شد.
- ۲- استفاده از دو جاذب بنتونیت سدیم و خاکستر پوست خربزه هر کدام به‌تنهایی منجر به حذف کارآمد رنگ سافرانین با غلظت‌های ۵ و ۱۰ ppm از محیط آبی سنتتیک شد.
- ۳- با افزایش غلظت سافرانین در آب، کارایی جذب رنگ توسط هر دو جاذب کاهش یافت.
- ۴- با وجود قدرت جذب بالای این دو جاذب (به‌ویژه بنتونیت سدیم)، در نتیجه اضافه کردن آن‌ها به محیط کشت اثرات منفی سافرانین بر پارامترهای تخمیری (به استثنای کل اسیدهای چرب فرار)، کاهش نیافت.

#### ۵- سپاسگزاری

این پژوهش حاصل طرح تحقیقاتی مصوب در کمیته پژوهشی مجتمع آموزش عالی تربت‌جام با کد TP۱۳۹۶۱ در بهار سال ۱۳۹۶ می‌باشد، لذا نویسندگان مقاله از مجتمع آموزش عالی تربت‌جام جهت حمایت‌های مالی از این طرح، قدردانی می‌نمایند. از گروه ویوان نیز به‌خاطر همکاری در اجرای این پژوهش و در اختیار قرار دادن محصول تجاریشان با نام بنتوفید، تقدیر و تشکر می‌گردد.

#### References

- Aghashahi A. R., Nikkhah A., Mirhadi S. A., Zahedifar M. and Mansouri H. (2006). Effect of different level of unprocessed bentonite, processed bentonite, and clinoptilolite of different rumen degradable protein level, on ammonia concentration, soluble and digestible protein (*In-vitro*). Anim. Sci. J., (Pajouhesh and sazandegi), 70, 80-90 [In Persian].
- Barnett A. J. G. and Reid R. (1957). Studies on the production of volatile fatty acids from grass in artificial rumen. 1. Volatile fatty acids production from fresh grasses. J. Agric. Sci., (Camb.), 48, 315-321.
- Bazrafshan E. and Kord Mostafapour F. (2012). Evaluation of color removal of Methylene blue from aqueous solutions using plant stem ash of persica. J. North Khorasan Univ. Med. Sci., 4(3), 523-532.
- Czerkawski J. W. (1986). An introduction to rumen studies. Pergamon Press, Oxford, New York. 246 pp.
- Dincer A. R., Gunes Y. and Karakaya N. (2007). Coal-based bottom ash (CBBA) waste material as adsorbent for removal of textile dyestuffs from aqueous solution. J. Hazard. Mater., 141 (3), 529-535.
- Ghaneian M. T., Ghanizadeh G., Gholami M. and Ghaderinasab F. (2010). Application of eggshell as a natural sorbent for the removal of reactive red 123 dye from synthetic textile wastewater. Zahedan J. Res. Med. Sci., 11(4), 25-34 [In Persian].
- Ghaneian M., Ehrampoush M., Dehvary M., Jamshidi B. and Amrollahi M. (2012). A

۴٪ قرار گرفت و به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد کاهش یافت. افزودن ۲٪ بنتونیت فرآوری شده یا نشده و یا کلینوپتیلولیت به‌محیط کشت، تأثیری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی حاصل از سطوح مختلف پروتئین قابل تجزیه در شکمبه نداشت، اما افزودن ۴٪ بنتونیت، به‌طور مؤثری غلظت نیتروژن آمونیاکی را خصوصاً در ساعات اولیه انکوباسیون کاهش داد، که این اثر با بالا رفتن میزان تجزیه‌پذیری پروتئین، افزایش یافت (Aghashahi et al. 2006). تولید پشم، غلظت نیتروژن آمونیاکی، وزن زنده حیوان و غلظت اسیدهای چرب فرار موجود در شکمبه تحت تأثیر افزودن سه نوع بنتونیت در جیره گوسفندان، قرار نگرفت (Murray et al. 1990). اگر چه که بر اساس مطالعات مختلف بنتونیت باعث کاهش نیتروژن آمونیاکی می‌گردد ولی در مطالعه حاضر اضافه کردن بنتونیت سدیم در مقایسه با شاهد تأثیری بر نیتروژن آمونیاکی محیط کشت نداشت.

#### ۴- نتیجه گیری

بر اساس نتایج حاصله می‌توان اذعان نمود که هر دو جاذب خاکستر پوست خربزه و مخصوصاً بنتونیت سدیم از پتانسیل قابل قبولی در حذف رنگ سافرانین از آب آلوده برخوردار بوده و نتایج کلی زیر قابل استنتاج می‌باشند:

- survey of the efficacy of cuttle fish bone powder in the removal of Reactive Red 198 dye from aqueous solution. *J. Toloo-behdasht.*, 10(3-4), 127-138 [In Persian].
- Gupta V. K., Mittal A., Jain R., Mathur M. and Shalini S. (2006). Adsorption of safranin-T from wastewater using waste materials activated carbon and activated rice husks. *J. Colloid Interface Sci.*, 303(1), 80-86.
- Iran Annual Agricultural Statistics. Ministry of Jihad-e-Agriculture of Iran. 2015. The 1<sup>st</sup> vol., Agricultural Crops. 107 pp.
- Kazemi M., Eskandary Torbaghan A., Tahmasbi A. M., Valizadeh R. and Naserian A. A. (2017a). Effects of phosalone consumption via feeding with or without sodium bentonite on performance, blood metabolites and its transition to milk of Iranian Baluchi sheep. *J. Anim. Sci. Technol.*, 59, 1-11.
- Kazemi M., Khabbaz Sirjani M., Tahmasbi A. M., Ibrahim Khoramabadi E. and Eskandary Torbaghan A. (2017b). Effects of sodium and calcium bentonite on growth performance and rumen ammonia in Holstein bulls. *Livest. Res. Rural. Dev.*, 29 (8). Article#144.
- Kazemi M., Tahmasbi A. M., Valizadeh R., Naserian A. A., Afshari R. and Sonei A. (2013). Effect of phosalone as an organophosphate pesticide with different levels of bentonite on fermentation parameters of a TMR ration according to *in vitro* condition. *Iran. J. Appl. Anim. Sci.*, 5(3), 201-209 [In Persian].
- Komolong M. K., Barber D. G. and McNeill D. M. (2001). Post-ruminal protein supply and N retention of weaner sheep fed on a basal diet of lucerne hay (*Medicago sativa*) with increasing levels of *quebracho* tannins. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 92 (1-2), 59-72.
- Lee S., Kim Y. and Kwak W. (2010). Effects of dietary addition of bentonite on manure gas emission, health, production, and meat characteristics of Hanwoo (*Bos taurus coreanae*) steers. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 23(12), 1594-1600.
- Levy G. (1982). Gastrointestinal clearance of drugs with activated charcoal. *N. Engl. J. Med.*, 307, 676-678.
- Liu Q., Yang B., Zhang L. and Huang R. (2015). Adsorption of an anionic azo dye by cross-linked chitosan/bentonite composite. *Int. J. Biol. Macromol.*, 72, 1129-1135.
- Makkar H. P. S. (2005). *In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123-124, 291-302.
- Maxim L. D., Niebo R. and McConnell E. E. (2016). Bentonite toxicology and epidemiology-a review. *Inhal. Toxicol.*, 28(13), 591-617.
- Menke K. H. and Steingass H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Develop.*, 28, 7-55.
- Mousavi S. A., Khashij M. and Shahbazi P. (2016). Adsorption isotherm study and factor affected on methylene blue decolorization using activated carbon powder prepared grapevine leaf. *J. Saf. Promot. Inj. Prevent.*, 3(4), 249-256 [In Persian].
- Murray H. H. (2005). Clay sorbents: the mineralogy, processing and applications. *ACTA Geodyn. Geomater.*, 2, 131-138.
- Murray P. J., Rowe J. B. and Aitchison E. M. (1990). The effect of bentonite on wool growth, liveweight change and rumen fermentation in sheep. *Aust. J. Exp. Agr.*, 30(1), 39-42.
- NRC. (2007). Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. 6<sup>rd</sup> ed. National Academy Press, Washington. 384 pp.
- Ørskov E. R. and McDonald I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agri. Sci.*, 92, 499-503.



- Patel H. A., Somani R. S., Bajaj H. C. and Jasra R. V. (2007). Synthesis and characterization of organic bentonite using Gujarat and Rajasthan clays. *Curr. Sci.*, 92, 1004-1009.
- Poage G. W., Scott C. B., Bisson M. G. and Hartmann F. S. (2000). Activated charcoal attenuates bitterweed (*Hymenoxys odorata*) toxicosis in sheep. *J. Range Manage.*, 53, 73-78.
- Preethi S., Sivasam A., Sivanesan S., Ramamurthi V. and Swaminathan G. (2006). Removal of Safranin basic dye from aqueous solutions by adsorption onto corncob activated carbon. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 45 (22), 7627-7632.
- SAS Institute INC. (2002). *Sas user's Guide: statistics. Statistical Analysis Systems Institute Inc. Cary NC.*
- Shariati S., Faraji M., Yamini Y. and Rajabi A. A. (2010). Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Magnetic nano-particles modified with sodium dodecyl sulfate for the removal of safranin dye from aqueous solutions. 13<sup>th</sup> National Congress On environmental health. Kerman, Iran. 15 pp.
- Sreelatha G., Ageetha V., Parmar J. and Padmaja P. (2011). Equilibrium and kinetic studies on reactive dye adsorption using palm shell powder (an agro-waste) and chitosan. *Chem. Eng. Sci.*, 56(1), 35-42.
- Theodorou M. K., Williams B. A., Dhanoa M. S., McAllan A. B. and France J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48, 185-197.
- Zohra B., Aicha K., Fatima S., Nourredine B. and Zoubir D. (2008). Adsorption of Direct Red 2 on bentonite modified by cetyltrimethylammonium bromide. *Chem. Eng. Sci.*, 136(2-3), 295-305.

# The Efficiency of Cheap Adsorbents in the Removal of Safranin Dye from Aqueous and Culture Medium

Mohsen Kazemi<sup>1\*</sup>, Elias Ebrahimi Khorram Abadi<sup>1</sup>, Ameneh Eskandary Torbaghan<sup>2</sup> and Reza Valizadeh<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Assist. Professor, Department of Animal Sciences Education, Higher Education Complex of Torbat-e-Jam, Torbat-e-Jam, Iran

<sup>2</sup>Lecturer, Department of Environmental Health Engineering, Torbat-e-Jam Faculty of Medical Sciences, Torbat-e-Jam, Iran

<sup>3</sup>Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

\*Corresponding author: [phd1388@gmail.com](mailto:phd1388@gmail.com)

## Original Paper

Received: December 22, 2017

Revised: May 17, 2018

Accepted: May 29, 2018

## Abstract

The possibility of contamination of surface waters by the safranin dye and its consumption by ruminants is inevitable subsequently; hence the effect of using safranin as a water pollutant with low-cost adsorbents on fermentation activities of ruminal microorganisms was investigated in a culture medium. Safranin, at three levels (0, 5 and 10 ppm) with processed sodium bentonite (SB) and ash prepared from *Cucumis Melo* L. skin, each at three levels (0 and 4 and 8 mg) were used with a factorial experiment 3×2×3 in a laboratory medium. Removal effect of safranin in water was also investigated at 3 and 24 h incubation. The maximum removal rate of safranin from water (5 ppm) for SB and melon peel ash was determined 90 and 80%, respectively at 24 h incubation. Removal percentage of safranin by two adsorbents, decreased when safranin increased from 5 to 10 ppm. In response to increasing the safranin levels from 0 to 10 ppm in the culture medium, potential gas production, and cumulative gas production after 12, 24 and 48 h incubation, ME, SCFA, NEI, MPY, and OMD decreased significantly compared to the control group. The gas production potential decreased when levels of both adsorbents increased from 2 to 4%. The amounts of TVFA and ammonia nitrogen in the culture media decreased when safranin concentration increased from 0 to 5 ppm. Generally, both adsorbents were able to remove safranin from the water, efficiency. The SB also appears to be more effective in eliminating of safranin rather than ash.

**Keywords:** Sodium Bentonite; Gas Production; Melon Peel Ash; Safranin.