

## بررسی حذف فسفات موجود در پساب صنعتی سنتتیک توسط *Acinetobacter calcoaceticus* PTCC1318 به روش راکتور ناپیوسته متوالی

امین برقی\*<sup>۱</sup>، محمد فائزی قاسمی<sup>۲</sup>، ساناز رئیس فرشید<sup>۳</sup>، راضیه ساداتی<sup>۴</sup>، ابوالفتح شجاعی<sup>۵</sup>

۱- \* دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، باشگاه پژوهشگران جوان، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۲، ۳ و ۵- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۴- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، باشگاه پژوهشگران جوان، تنکابن، ایران، صندوق پستی: ۴۶۸۱۷

rafi27\_22@yahoo.com

### چکیده

آب‌های سطحی شامل مقدار معینی فسفر می‌باشد. در شرایط طبیعی، غلظت فسفر در آب‌ها متعادل بوده و در حد نیاز سیستم‌های اکولوژیکی موجود می‌باشد. ولی هنگامی که ورودی فسفر به آب‌ها بالاتر از حد نیاز باشد، مشکل آلودگی آب‌ها ایجاد می‌شود. زیرا فسفر اضافی منجر به رشد فزاینده جلبک‌ها به طور گسترده شده که ایجاد پدیده یوتروفیکاسیون می‌کند. این پدیده سبب کاهش کیفیت آب‌ها می‌گردد که در نتیجه هزینه خالص سازی آب بطور قابل توجهی افزایش می‌یابد. در نتیجه تلاش‌هایی در جهت حذف فسفر بطور میکروبی توسط روشی بنام افزایش بیولوژیکی حذف فسفر (EBPR) صورت گرفته که فسفر حذف شده از پساب به عنوان پلی فسفات داخل سلولی در می‌آید. سویه‌های *Acinetobacter* به عنوان باکتری مسئول EBPR می‌باشد که فسفر را بصورت پلی فسفات و پلی هیدروکسی آلکانوات تحت شرایط هوایی مجتمع می‌کند تا در شرایط قحطی، از این ذخایر به عنوان منبع انرژی و کربن برای رشد خود استفاده کنند. در این مطالعه از روش راکتور ناپیوسته متوالی جهت بررسی حذف فسفات استفاده شد. هر راکتور از یک مخزن و یک همزن تشکیل شد و در دمای ۳۰°C و یک بازه زمانی ۲۰ ساعته تنظیم گردید. این مجموعه در یک CRT (سن لجن) ۱۴ روزه مورد آزمایش قرار گرفت. همچنین تأثیر پارامترهای مختلف آزمایشگاهی از قبیل pH، سرعت همزدن، زمان جذب، دما، غلظت اولیه فسفات و دوز مصرفی فسفات مورد ارزیابی قرار گرفت. در این بررسی مشخص شد که این باکتری در شرایط اپتیمم، میزان ۱۰-۱۲ mg/L از فسفات را به کمتر از ۰/۱ mg/L کاهش می‌دهد.

**کلمات کلیدی:** حذف فسفات، *Acinetobacter calcoaceticus* PTCC1318، راکتور ناپیوسته متوالی.

## مقدمه

کنترل فسفات ایجاد شده از فاضلاب شهری و صنعتی عامل کلیدی در جلوگیری از یوتروفیکاسیون آب‌های سطحی است. فسفات یکی از مواد مغذی مهم دخیل در افزایش یوتروفیکاسیون (Eutrophication) دریاچه‌ها و آب‌های سطحی بوده و حضور آن سبب ایجاد مشکلات زیادی در کیفیت آب‌ها از جمله افزایش هزینه‌های تصفیه، از بین رفتن دام‌ها، افزایش اثر کشندگی سموم جلبک‌ها و غیره می‌باشد. حذف فسفات در حال حاضر بطور عمده توسط ترسیب شیمیایی صورت می‌گیرد. مسلماً روش‌های شیمیایی مستلزم بکارگیری ترکیبات شیمیایی هستند که از لحاظ هزینه‌های مربوط بسیار گران است و باعث افزایش حجم لجن تا ۴۰٪ می‌گردد. از طرفی در ارتباط با اثرات سوء احتمالی باقیمانده این ترکیبات در محیط، در بسیاری از موارد روش جایگزین آن، حذف بیولوژیکی فسفات (Biological Phosphate Removal) می‌باشد (۵، ۱۰ و ۲۱).

تصفیه فاضلاب‌های صنعتی، باعث کاهش و حذف آلاینده‌ها از جمله مواد مغذی خواهد شد، متعاقباً می‌توان به راحتی پساب‌های حاصله را به آب‌های پذیرنده دفع نمود و یا مجدداً آن‌ها را در سیکل مصرف قرار داد. از روش‌های شیمیایی و بیولوژیکی به منظور تصفیه فاضلاب‌ها و حذف مواد مغذی استفاده می‌شود. در بین عناصر مغذی فسفات به دلایل مختلف از جمله اهمیت آن در سنتز سلولی اسیدهای نوکلئیک و بخش فسفولیپیدی غشاء سلولی و همچنین نقش آن در تولید مکمل‌های پر انرژی<sup>۱</sup> ATP و ذخیره‌سازی انرژی به عنوان عامل کنترل کننده رشد

سلولی مورد توجه بوده است. در نتیجه، تلاش‌هایی در جهت حذف فسفات بطور میکروبی با پروسه‌ای به نام افزایش بیولوژیکی حذف فسفات (EBPR) صورت گرفته است که فسفات حذف شده توسط میکروارگانیسم‌ها از توده پساب به عنوان پلی فسفات داخل سلولی در می‌آید که این پلی فسفات یک ترکیب با انرژی بالاست و هیدرولیز آن می‌تواند انرژی واکنش‌های بیوشیمیایی گوناگون درون سلولی را تأمین کند (۴ و ۱۷).

این قبیل پروسه‌ها بر پایه یک قاعده کلی استوار است که توده زنده به باز چرخ مکرر از میان مراحل بی‌هوایی و هوایی بصورت متناوب نیاز دارد. فقط پس از تکرار باز چرخ، این ارگانیسم‌های مجتمع کننده پلی فسفات (PAO) هستند که یک مزیت انتخابی بیش از جمعیت‌های دیگر دارند و سرانجام بر آن‌ها غالب می‌شوند (۱۳ و ۱۶).

باکتری‌های مجتمع کننده فسفات (Poly Phosphate Accumulating Organisms) نقش مهمی را در پروسه EBPR در پساب ایفا می‌کنند. باکتری‌ها از جنس اسپنتوباکتر به عنوان ارگانیسم‌های مدل برای EBPR به حساب می‌آیند که خود از لجن فعال جداسازی شده‌اند (۸). اگر چه تعداد سویه‌های اسپنتوباکتر موجود در لجن فعال به شدت پائین است ولی این ارگانیسم‌ها دارای بالاترین ظرفیت حذف اورتوفسفات (O-P) از میان کل باکتری‌های مجتمع کننده فسفات جدا شده را دارند (۱۹).

در شرایط بی‌هوایی، PAO برای جذب اسیدهای چرب فرار مثل استات الویت دارند. این اسیدهای چرب فرار برای رشد سلول استفاده نمی‌شوند ولی برای سنتز کربن و انرژی داخل سلولی، پلی هیدروکسی آلکا

<sup>۱</sup> Adenozin three phosphate

### نمونه‌گیری و جداسازی باکتری‌های ذاتی

برای اینکار پساب مجموعه کارخانجات صنعتی تولید مواد شوینده تاژ مورد نمونه‌گیری قرار گرفت. نمونه‌گیری در ۳ زمان مختلف انجام گرفت که میانگین pH پساب ۶/۹ و درجه حرارت آن ۲۴ درجه سانتی‌گراد بود. نمونه بدست آمده را با قرار دادن در ظرف یخ به سرعت به آزمایشگاه انتقال داده و مورد بررسی قرار دادیم. ۹۰ میلی‌لیتر از نمونه پساب و ۱۰ میلی‌لیتر از پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) ۱٪ را در یک ارلن مایر فلاسک ۱ لیتری مخلوط کردیم. سپس بالن را به مدت ۲ روز در دمای ۲۵ درجه بر روی شیکر گذاشته تا باکتری‌ها رشد کنند. ۳۰ میلی‌لیتر از این مخلوط را به ۳ بالن حاوی ۷۵ میلی‌لیتر نوترینت برات غنی شده با فسفات انتقال می‌دهیم و به مدت ۵ روز بر روی شیکر در ۲۵ درجه قرار دادیم. پس از گذشت زمان مورد نظر از مخلوط یک رقت سریال از  $10^{-1}$  تا  $10^{-9}$  تهیه کرده و سپس از رقت‌های  $10^{-5}$  تا  $10^{-9}$  بر روی محیط نوترینت آگار جامد کشت خالص تهیه شد. پس از ۲ روز انکوبه کردن کشت‌ها در ۲۵ درجه سانتی‌گراد، باکتری‌ها بر روی محیط کاملاً رشد نمودند.

### مایه تلقیح و محیط کشت

۲ نوع مایه تلقیح در مطالعه حاضر استفاده شده است. پیش مایه تلقیح که در آن، سویه باکتری را در محیط نوترینت برات کشت داده و آن را در شیکر انکوباتور با دمای  $30^\circ\text{C}$  قرار داده که در آن سلول‌ها بطور فعال در فاز لگاریتمی رشد نمود، و پس از گذشت مدت زمان ۲۴ h به مایه تلقیح دوم انتقال داده شد، که محتویات آن در جدول ۱ ذکر شده است.

نوآت (PHA) را ذخیره می‌کنند که در نتیجه این پلی فسفات داخل سلولی برای فراهم شدن انرژی تجزیه می‌شود و فسفات به توده مایع آزاد می‌گردد. در شرایط هوازی، ذخایر PHA برای رشد سلول، تشکیل گلیکوژن، نگهداری و حذف اورتو فسفات‌ها (o-P) از پساب عمل می‌کنند (۱۶ و ۷).

فسفر، مهمترین عامل کنترل کننده یوتریفیکاسیون محسوب می‌شود. به همین دلیل، حذف آن از فاضلاب و پساب دفعی به آب‌های پذیرنده می‌تواند از رشد میکروارگانیسم‌ها و بخصوص جلبک‌ها که در صورت رشد بیش از حد پدیده یوتریفیکاسیون را در منابع آبی ایجاد می‌کنند، پیشگیری نموده و بسیاری از مشکلات حاصل از عدم تصفیه کافی و تخلیه آن‌ها به منابع آب را کاهش داد. با توجه به این که تا به حال، مطالعه‌ای در زمینه حذف بیولوژیک فسفات توسط *Acinetobacter spp.* در ایران صورت نگرفته و همچنین فسفر مازاد از پساب کارخانجات صنعتی مواد شوینده، مشکلات عدیده‌ای را برای اکوسیستم طبیعی منطقه ایجاد کرده است، موضوع این مطالعه جهت بررسی راندمان حذف و کاهش میزان فسفر خروجی از تصفیه خانه فاضلاب ضروری به نظر رسید.

### مواد و روش‌ها

میکروارگانیسم مورد استفاده در این تحقیق، *Acinetobacter calcoaceticus* (PTCC1318) می‌باشد، که آمپول لیوفیلیزه آن، از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی عفونی ایران تهیه شد.

پمپ ورودی و یک پمپ خروجی بوده و در دمای  $30^{\circ}\text{C}$  انجام شد. حجم راکتور ۲۵۰۰ ml بوده که حجم مایع تلقیح اضافه شده حاوی فسفات به سیستم ۱۲۵۰ ml و حجم مایع مخلوط شده و مایع فسفات ته نشین شده از راکتور به ترتیب ۲۵ ml و ۱۲۲۵ ml بوده است. این مجموعه (batch) در یک حالت نیمه مداوم در یک (HRT) Hydraulic Retention Time) ۲۰ ساعت و یک (CRT) Cell Retention Time) ۱۴ روزه آزمایش شد (۲). نتایج حاصل از این آزمایش با ۳ مایه تلقیح متفاوت انجام گرفت، قابل مشاهده است.

### روش اندازه گیری و آنالیز نمونه‌ها

در این بررسی نمونه‌های تخلیه شده از هر سیکل چرخه SBR را در دور ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۲۰ min سانتریفوژ کرده تا میکروارگانیسم‌ها از محیط مایع حذف شوند. سپس مایع رویی را از رسوبات جدا کرده و آن را برای آنالیز مقدار غلظت فسفات ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) توسط روش اسپکتروفتومتریک مورد بررسی و اندازه گیری قرار گرفت. تعیین مقدار COD توسط روش‌های استاندارد تعیین شده توسط Apha (۲۰۰۵) انجام پذیرفت (۱ و ۱۱ و ۱۸).

### روش اندازه گیری نمونه مورد آزمایش (روش

#### اسپکتروفتومتریک)

اصول این روش بر این پایه است که محلول اسیدی حاوی اورتو فسفات‌ها در مجاورت اسید مولیبدیک ایجاد رنگ زرد مولیبدی فسفریک می‌نمایند که شدت رنگ با مقدار فسفات موجود نسبت مستقیم دارد. این محلول زرد رنگ با معرف ۱-آمینو ۲-نفتل

جدول ۱: محتویات محیط کشت استفاده شده

مقدار (گرم بر لیتر)	مواد به کار رفته
۵	$\text{CH}_3\text{COONa}$
۰/۶	$\text{NH}_4\text{Cl}$
۰/۱۵	$\text{KH}_2\text{PO}_4$
۰/۰۵	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
۰/۰۷	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
۰/۱	$\text{NaCl}$

### روش Shake flask

در این روش از ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی لیتری استفاده شد. برای این کار میزان ۱۰۰ میلی لیتر از محلول استاندارد فسفات تهیه شده را درون بالن ریخته و به میزان مورد نظر از مخلوط باکتری تلقیح گردید. سپس بالن تحت شرایط مختلف از قبیل زمان تماس، pH، دما، سرعت همزدن و ... قرار داده شد. لازم به ذکر است که محلول استاندارد فسفات را قبل از انجام آزمایش اتو کلاو ( $121^{\circ}\text{C}$  در فشار ۱۵ پوند) نموده و تمام مراحل آزمایش زیر هود و در شرایط استریل انجام شد. سپس توسط در پوش پنبه‌ای دهانه ارلن مایر را پوشانده و در شرایط متغیر جهت بدست آوردن شرایط اپتیمم انکوبه گردید.

### (SBR) Sequencing batch reactor

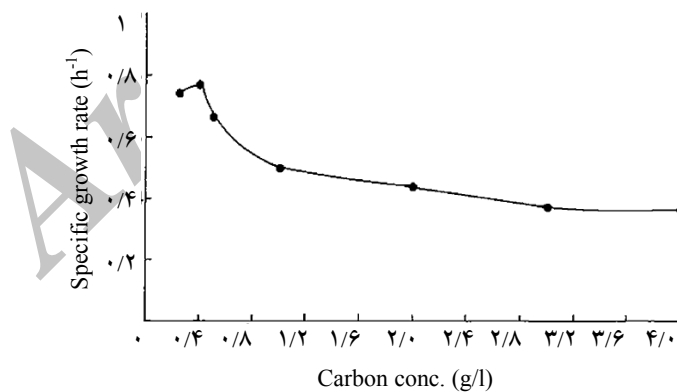
راکتور استفاده شده در این تحقیق از یک مخزن شیشه‌ای پیرکس تشکیل شده که آن را توسط یک همزن مغناطیسی در ۳۰۰ rpm بهم زده و توسط یک پمپ هوادهی به میزان ۷۰۰ ml/min هوادهی گردید. pH راکتور در ۷/۵ توسط اضافه کردن دستی ۰/۲۵ M HCL کنترل شد. این سیستم دارای یک

### نتایج

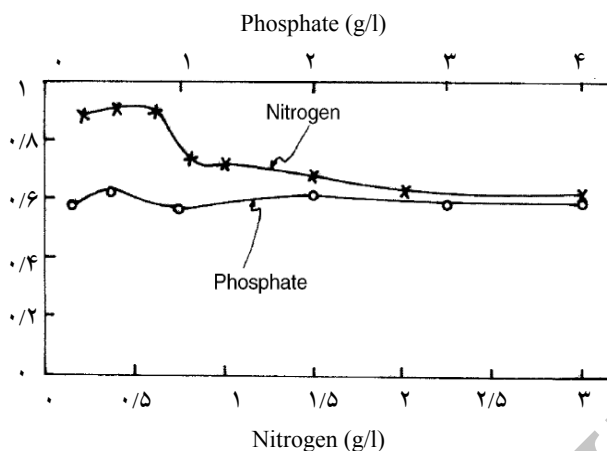
در تحقیق حاضر نحوه تأثیر منبع کربن (سدیم استات)، نیتروژن (آمونیم کلراید) و فسفات (دی هیدروژن پتاسیم فسفات) ارزیابی شده و مشخص گردید که منبع کربن در غلظت‌های بالاتر از ۰/۵ g/lit و نیتروژن در غلظت‌های بالاتر از ۰/۶ g/lit سبب ممانعت رشد باکتری و کاهش جذب فسفات می‌گردند و یا غلظت‌های بالای فسفات هیچ اثر ممانعت کننده‌ای نشان نداد. همچنین مشخص شد که *Acinetobacter calcoaceticus* در شرایط اپتیمم میزان ۱۰-۱۲ mg/L از فسفات را به کمتر از ۰/۱ mg/L کاهش می‌دهد.

نمودار ۱ تأثیر افزایش غلظت منبع کربن (گلوکز) و نمودار ۲ تأثیر غلظت نیتروژن و فسفات را بر روی میزان رشد اختصاصی *Acinetobacter calcoaceticus* و حذف فسفات نشان می‌دهد.

۴- سولفونیک اسید تولید کمپلکس آبی رنگ می‌کند که با دستگاه اسپکتروفتومتر قابل اندازه‌گیری است. مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر از آب مورد آزمایش را برداشته، به ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری انتقال داده شد. سپس بر روی نمونه مورد نظر مقدار ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک و ۵ میلی‌لیتر آمونیوم مولیبدات و ۵ میلی‌لیتر معرف ۱- آمینو ۲- نفتل ۴- سولفونیک اسید ریخته و مدت ۱۰ دقیقه صبر کرده تا رنگ ظاهر شد. سپس رنگ تولید شده به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۶۵۰ میلی‌میکرون اندازه‌گیری گردید. در این مرحله از روی اعداد خوانده شده و با در دست داشتن منحنی استاندارد مقدار نمونه مورد آزمایش از روی منحنی محاسبه شد.



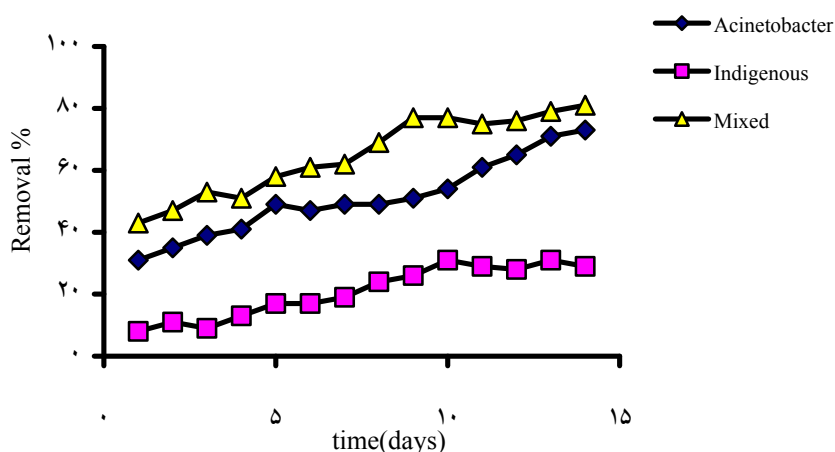
نمودار ۱: ارتباط میان غلظت منبع کربن و رشد اختصاصی باکتری در فرایند حذف



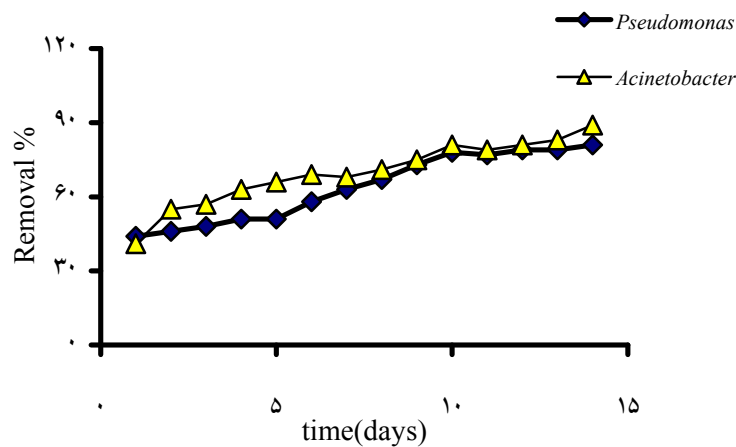
نمودار ۲: تأثیر غلظت نیتروژن و فسفات بر روی رشد اختصاصی سویه و میزان حذف

حدود ۲۹٪ و ۸۱٪ به دست آمد. همین طور در نمودار ۴ شرایط بهینه حذف قابل مشاهده است. همانطور که در نمودار مشخص شده است بالاترین میزان حذف توسط مخلوط باکتری‌های بومی پساب در شرایط بهینه به دست آمد که میزان حذف ۸۹٪ و در مورد سویه *Acinetobacter* نیز در شرایط بهینه حذفی به میزان ۸۱٪ مشاهده شد.

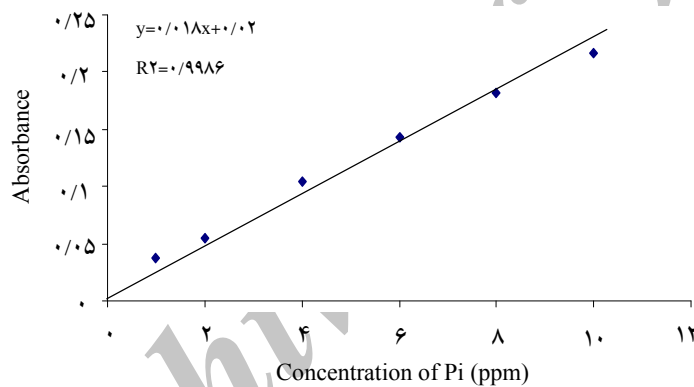
نمودار ۳ نتایج بررسی مقایسه‌ای SBR با ۳ مایه تلقیح متفاوت در شرایط غیر بهینه را نشان می‌دهد و همانطور که در نمودار نشان داده شده است مایه تلقیح حاوی *Acinetobacter spp.* دارای بالاترین میزان جذب می‌باشد که در انتهای چرخه جذبی در حدود ۷۳٪ به دست آمد و در مورد جنس *Pseudomonas* و همین طور مخلوط باکتری‌ها به ترتیب جذبی در



نمودار ۳: نتایج بررسی مقایسه‌ای SBR با ۳ مایه تلقیح متفاوت در شرایط غیر بهینه حذف



نمودار ۴: نتایج بررسی مقایسه‌ای SBR توسط *Pseudomonas* و *Acinetobacter* در شرایط بهینه حذف



نمودار ۵: نمودار کالیبراسیون استاندارد برای غلظت‌های مختلف فسفات

همچنین با بررسی تأثیر کاتیون‌ها مشخص شد که منیزیم تا غلظت ۰/۰۷ گرم در لیتر سبب افزایش جذب فسفر شد ولی غلظت‌های بالاتر اثر منفی روی حذف فسفر نشان می‌دهد.

از نقطه نظر اقتصادی طراحی سیستم‌های اصلاح شده تصفیه بیولوژیکی جهت تصفیه فاضلاب‌های مراکز صنعتی به منظور حذف بیشتر فسفر با توجه به عدم نیاز به هزینه زیاد، ضروری به نظر می‌رسد. در فرآیند بیولوژیکی حذف فسفر از ترکیبات شیمیایی استفاده نمی‌شود و بنابراین پساب خروجی و یا لجن

در این مطالعه تأثیر پارامترهای مختلف از قبیل دز مصرفی باکتری، غلظت اولیه فسفات، pH، سرعت همزدن، دما، زمان تماس، حضور همزمان برخی کاتیون‌ها و نمک‌ها و اسیدهای آلی مورد بررسی قرار گرفت و شرایط بهینه انتخاب گردید. بر همین اساس زمان اختلاط مناسب برای جذب فسفات توسط باکتری ۶ ساعت، دمای مناسب برای حداکثر جذب بین ۳۰ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد و pH مناسب برای حداکثر حذف فسفات ۷/۵ تعیین گردیده است.

ضعیف بودن نیروی جذب بین محل‌های فعال در دیواره سلولی باکتری و فسفات می‌باشد. غلظت کاتیون‌ها هم در ترکیب فاضلاب‌ها و پساب‌ها نقش مهمی را در بالا بردن توانایی سیستم‌های بیولوژیکی حذف فسفر ایفا می‌کند. انتقال همزمان ۲ کاتیون پتاسیم و منیزیم با فسفر در پروسه BPR در ذخیره‌سازی داخل سلولی پلی فسفات بسیار مهم است. به طور معمول یک کربوهیدرات و مخلوط یک اسید آلی به عنوان منابع کربن و انرژی در حذف مواد مغذی از جمله فسفات مورد استفاده قرار می‌گیرند. گلوکز به عنوان فراوانترین کربوهیدرات به حساب می‌آید که در تولید ATP جهت فراهم کردن انرژی استفاده می‌شود و این کار برای بیوسنتز پلی هیدروکسی بوتیرات و پلی فسفات ضروری می‌باشد. همچنین طبق مطالعات صورت گرفته، استات به عنوان منبع کربن برای تولید PHB در فاز بی‌هوایی از چرخه حذف بکار می‌رود (۱۰).

اهمیت استراتژی غذادهی زمانی آشکار می‌شود که بدانیم سرنوشت EBPR در جمعیت‌های غذادهی شده توسط فسفات و استات به طور همزمان تحت شرایط هوایی با اندیشه صحیح مطرح شده است. اگر چه محدودیت نیتروژن و فسفات امکان القاء سنتز PHA هوایی را به سطوح بالا در باکتری‌ها دارد (۱۵). تحقیقات گذشته گزارش دادند که سویه‌های *Acinetobacter* یک نقش اساسی در حذف بیولوژیک فسفات دارند و مطالعه بر روی پساب‌های شهری و صنعتی مشخص کرد که این باکتری چیزی در حدود ۱۰٪-۱ از جمعیت باکتری‌های موجود در لجن فعال را تشکیل می‌دهد (۳).

در مطالعه‌ای که توسط Kargi و همکاران (۱۱) انجام گردید مشخص شد که بالاترین درصد حذف

حاصله از این نظر اثر سوئی بر آب‌ها و جانداران آبی نخواهد داشت.

در این مطالعه، تلقیح باکتری و رشد و جذب فسفات در شرایط اپتیمم در ارلن مایر فلاسک ml ۲۵۰، جذبی در حدود ۴۲٪ را نشان داد در حالی که در فرمانتور طراحی شده و شرایط اپتیمم، حذف فسفات بهبود یافته و به چیزی در حدود ۸۹٪ رسیده است.

### بحث

در مطالعه حاضر، رشد و جذب فسفات توسط تحت شرایط هوایی و در یک سیستم مجموعه کشت نیمه مداوم مورد بررسی قرار گرفت. باکتری‌های موجود در این پروسه می‌توانند متناوباً پلی فسفات و PHA را به طور هوایی مجتمع کنند. به دلیل این که در مرحله غذادهی در غیاب یک منبع خارجی فسفات، آن‌ها از ذخایر پلی فسفات به همراه استات برای سنتز PHA استفاده می‌کنند نه برای رشد سلول، و در مرحله قحطی هنگامی که منبع غذایی حاوی فسفات پائین به راکتور اضافه می‌شود، در غیاب یک منبع خارجی کربن و انرژی، باکتری‌ها از ذخایر PHA داخلی به عنوان یک منبع انرژی برای جذب فسفات و تبدیل آن به پلی فسفات استفاده می‌کنند. بنابراین پروسه‌های چرخه‌ای هوایی، یک پساب حاوی فسفات بسیار پائین از یک لجن حاوی فسفات با یک COD کم ایجاد می‌کنند (۲). در نتیجه در مورد جذب فسفر خنثی بودن pH سبب افزایش سرعت حذف و کاهش زمان تماس و همچنین کاهش غلظت فسفر در محلول خروجی نسبت به حالت اسیدی و قلیایی می‌گردد. همچنین کاهش جذب در دماهای بالاتر ممکن است ناشی از



آب‌ها، از بین رفتن دام‌ها و مراتع کشاورزی و غیره کاسته شود.

### سپاسگزاری

از جناب آقای مهندس رضایی مسئول بخش میکروبیولوژی کارخانه تاژ و سرکار خانم داستان کارشناس آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان تشکر می‌نمایم. همچنین از آقایان گرجی دوز و میرزائی که در طول این تحقیق ما را یاری نمودند قدردانی می‌نمایم.

### منابع

1. APHA, AWWA, WEF, 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21<sup>th</sup> ed. APHA, Washington, DC. P 1368.
2. Ahn, J.; Schroeder, S.; Beer, M.; Mcilroy, S.; Bayly, R.C.; May, J.W.; Vasiliadis, G. and Seviour, R.J., 2007. Ecology of the Microbial Community Removing phosphate from Wastewater under Continuously Aerobic Conditions in a Sequencing Batch Reactor. American society for microbiology. P. 2257-2270.
3. Bayly, R.C.; Duncan, A.; May, J.W.; Schembri, M. and Semerjis, A., 1991. Microbiological and genetic aspects of synthesis of polyphosphate by species of Acinetobacter. Water Sci. Technol. 23:747-754.
4. Blackall, L.L.; Crocetti, G.R.; Saunders, A.M. and Bond, P.L., 2002. A review and update of the microbiology of enhanced biological phosphorus removal in wastewater treatment plants. Antonie Leeuwenhoek 81:681-691.
5. Chinwetkitvanich, S.; Randall, C.W. and Panswad, T., 2004. Effects of phosphorus limitation and temperature on PHA production in activated sludge. Water Sci. Technol. 50:135-143.

فسفات در پایان چرخه حذف مواد مغذی (سیکل ۷/۵ ساعته) با حضور مخلوط گلوکز و اسید استیک به میزان ۹۶٪ صورت گرفت. به این دلیل که اسید سیتریک به عنوان یک حد واسط در چرخه TCA برای تشکیل ATP در طی فاز هوازی استفاده می‌شود که این امر جذب و سنتز پلی فسفات را به طور چشمگیری بالا می‌برد (۱۶ و ۱۰).

در تحقیقی توسط Dong bo (۶) با عنوان حذف بیولوژیک فسفر در راکتورهای بسته متوالی با فرآیند تک مرحله ای هوازی انجام گرفت. در این تحقیق، حذف فسفر توسط *Microtrix parricella* صورت گرفت. کارآیی حذف فسفر در این تحقیق در ۳۳ روز به ۹۵ درصد رسید و گلوکز نیز به عنوان منبع کربن قرار گرفت.

در سال ۲۰۰۸ تحقیقی توسط Zhou yan انجام گرفت. در این تحقیق از یک سیستم پایلوت با لجن دانه‌ای و یک محیط بیوفیلم به روش بی هوازی-انوکسیک و هوازی کوتاه مدت برای حذف نیتروژن و فسفر استفاده گردید. نتیجه اینکه لجن دانه‌ای بجای لجن لخته‌ای به طور قابل توجهی حذف نیتروژن و فسفر را تسهیل و تسریع بخشید و تغذیه دائمی فاضلاب یک راهکار کارآمد برای کاهش تأثیرات بازدارندگی نیتريت روی جذب فسفر و کاهش اکسید دی نیتروژن بود. بازده حذف فسفر و نیتروژن در این تحقیق ۸۱ و ۹۴ درصد بدست آمد (۲۲).

اطلاعات بدست آمده از راکتور نیمه مداوم نشان داد که می‌توان با طراحی مدل‌های آسان و اقتصادی، عملیات SBR را در جهت توسعه تصفیه و درمان فاضلاب‌های صنعتی و شهری بکار گرفت تا به میزان بسیار زیادی از خسارت‌های ناشی از یوتریفیکاسیون

6. Dong-bo, W., 2008. Biological phosphorus removal in Sequencing batch reactor with single-stage oxic process. *Bio Research Technology*, 99. 5466-5473.
7. Kortstee, G.J.J.; Appeldorn, K.J.; Bonting, C.F.C.; van Niel, E.W.J. and van Veen, H.W., 2000. *Biochem.-Moscow*, 65 (2000) 332-340.
8. Funs, G.W. and Chen, M., 1975. *Microb. Ecol.* 2: 119-138.
9. Guisasola, G.; Pijuan, M.; Baeza, J.A.; Carrera, J.; Casas, C. and Lafuente, J., 2004. Aerobic phosphorus release linked to acetate uptake in bio-P sludge: process modeling using oxygen uptake rate. *Biotechnol. Bioeng.* 85:721-733.
10. Kargi, F. and Uygur, A., 2003. Effect of carbon source on biological nutrient removal in a sequencing batch reactor. *Bioresour. Technol.* 89; 89-93.
11. Kargi, F.; Uygur, A. and Baskaga, H.S., 2005. Phosphate uptake and release rates with different carbon sources in biological nutrient removal using a SBR. *Appl. Environ. Microbiol.* 76:71-75.
12. Liu, Y.; Xue, G.; Yu, Sh.L. and Zhao, F., 2006. Role of extracellular exopolymers on biological phosphorus removal, pp.670-674.
13. Mino, T.; Van Loosdrecht, M.C.M. and Heinen, J.J., 1998. Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process. *Water Res.* 32:3192-3207.
14. Mulkerrins, D.; Dobson, A.D.W. and Colleran, E., 2004. Parameters affecting biological phosphate removal from wastewaters, *Environ. INT.*, 30. 249-259.
15. Pijuan, M.; Guisasola, A.; Baeza, J.A.; Carrera, J.; Casas, C. and Lafuente, J., 2006. Net P-removal deterioration in enriched PAO sludge subjected to permanent aerobic conditions. *J. Biotechnol.* 123:117-126.
16. Plackett, R.L. and Burman, J.P., 1946. The design of optimal multifactorial experiments. *Biometrika*, 33:305-25.
17. Seviour, R.J.; Mino, T., and Onuki, M., 2003. The microbiology of biological phosphorus removal in activated sludge systems. *FEMS Microbiol. Rev.* 27:99-127.
18. Srivastava, S. and Srivastava, A.K., 2005. Studies on phosphate uptake by *Acinetobacter calcoaceticus* under aerobic conditions. *Enzyme Microb Technol*, 36:362-8.
19. Sidat, M.; Bux, F. and Kasan, H.C., 1999. Polyphosphate accumulation by bacteria isolated from activated sludge. *Water SA*, 25:175-80.
20. Theodore, K. and Panda, T., 1995. Application of response surface methodology to evaluate the influence of temperature and initial pH on the production of  $\beta$ -1, 3- glucanase and carboxymethylcellulase from *Trichoderma harzia-num*. *Enzyme Microb Technol*, 17:1043-9.
21. Wentzel, M.C.; Lotter, L.H.; Loewenthal, R.E. and Marais, G.V.R., 1986. Metabolic behavior of *Acinetobacter* ssp. in enhanced biological phosphorous removal: a biochemical model. *Water SA* 12, 209-224.
22. Zhou, Y., Pijuan, M. and Yuan, Zh., 2008. Development of a 2-sludge 3-stage system for nitrogen and phosphorus removal from nutrient rich wastewater using granular sludge and biofilm. *Journal, water Research*, 42. 3207-3217.