بررسی سینتیک تجزیه زیستی نرمال هگزان توسط یک مجموعه قارچ جداشده از فیلتر زیستی

الهام ایرانمنش، روئین حلاج*+
تهران، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی شیمی، صندوق پستی ۴۴۱۳ - ۱۵۸۷۵

سید مرتضی ضمیر
تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده مهندسی شیمی، گروه بیوتکنولوژی، صندوق پستی ۱۴۳ - ۱۴۱۱۵

چکیده: بررسی سینتیک تجزیه زیستی یک آلاینده، نکته اصلی در مشخصه سازی عملکرد یک فیلتر زیستی است. در این پژوهش، از یک مجموعه قارچ جدا شده از بستر کمپوست فیلتر زیستی که پیش‌تر برای حذف بخار هگزان از هوا به کار گرفته شده بود، برای مطالعه سینتیک حذف هگزان استفاده شد. توانایی این مجموعه قارچی، با تأکید بر اثر دما و غلظت آلاینده، در یک سامانه‌های ناپیوسته در فاز مایع مورد مطالعه قرار گرفت. غلظت هگزان در بازه‌ی ۵-۲۵mg/L و دما ۲۵-۴۵°C بر اساس طرح مرکب مرکزی (CCD) بررسی شد. شرایط بهینه در دمای ۳۶/۵°C و غلظت ۸/۶mg/L به دست آمد. مدل‌های سینتیکی گوناگون با داده‌های آزمایشگاهی در دو دمای ۲۵ و ۴۰°C برازش شدند و مدل‌های سینتیکی هالدین، وب و یانو به خوبی با نتیجه‌ها تطابق داشتند (R^2>۰/۹۸). هم‌چنین تمایل مجموعه قارچی برای تجزیه هگزان در دمای ۴۰°C بیشتر از دمای ۲۵°C بود. پارامترهای سینتیکی مدل هالدین در دمای ۴۰°C عبارتند از v_{max}=۳/۵۷mg/gBiomass·h، K_S=۹/۵۷mg/L و K_I=۲۰/۴۸mg/L.

واژه‌های کلیدی: تجزیه زیستی، سینتیک، نرمال هگزان، سوبسترای بازدارنده، دما.

KEY WORDS: *Biodegradation, Kinetics, n-Hexane, Inhibitator substrate, Temperature.*

مقدمه

ترکیبات آلی فرار گستره‌ی گسترده‌ای از ترکیب‌های آلیفاتیکی، آروماتیکی، هیدروکربن‌های کلردار، آلدهیدها، کتونها، استرها، اسیدهای آلی و الکل‌ها را شامل می‌شوند که به VOC(۱) معروف می‌باشند. افزایش فزاینده‌ی نشر VOCها و اطلاع در مورد طبیعت زیان‌آور آنها و همچنین افزایش سخت‌گیری مقررات زیست محیطی سبب ایجاد روش‌های گوناگونی برای حذف VOCها شده است. استفاده از فیلتراسیون زیستی برای حذف این ترکیبات از یک هوای آلوده کارایی بالا و هزینه‌های نگهداری و عملکردی پایینی دارد [۱]. در واکنش‌های زیست شیمیایی نیز مانند تمامی واکنش‌ها، عامل زمان مطرح می‌شود و کمیتی که عامل زمان را در واکنش‌ها مورد بحث

*عهده دار مکاتبات
+E-mail: halladj@aut.ac.ir

(۱) Volatile Organic Compound

Archive of SID
www.SID.ir

قرار می‌دهد، سینتیک واکنش است. داشتن اطلاع در مورد سینتیک واکنش (سرعت رشد میکروارگانیسم‌ها و یا سرعت حذف سوبسترا) از اهمیت بالایی برخوردار است. برای یک واحد تصفیه با در دست داشتن چنین اطلاعاتی می‌توان پیش‌بینی درستی در مورد کیفیت جریان خروجی از واحد تصفیه داشت. یک مدل سینتیکی دقیق و پارامترهای مربوط به آن می‌تواند مهندسان واحدهای تصفیه را در بهینه کردن شرایط عملیاتی سامانه تصفیه یاری کند به نحوی که جریان خروجی از واحد تصفیه با استانداردهای زیست محیطی منطبق باشد [۲].

سینتیک فرایند تجزیه زیستی در فیلترهای زیستی به طور گسترده‌ای به صورت ماکرو مورد مطالعه قرار گرفته است؛ به این مفهوم که غلظت‌های ورودی و خروجی به دست آمده از فیلتر زیستی به طور مستقیم در معادله‌های سینتیکی مرسوم به کار برده شده‌اند [۵-۳]. در پژوهش‌های صورت گرفته توسط *ضمیر* [۶] و *صدرایی* [۷] برای مطالعه سینتیک فیلتراسیون زیستی به صورت ماکرو، از رابطه میکائلیس ـ منتن استفاده شده است. اما اشکال عمده در نگرش ماکرو این است که وجود پدیده‌های پیچیده انتقال جرم و مومنتوم بین فاز گاز، مایع و لایه زیستی در فیلترهای زیستی باعث می‌شود تا در پایان معادله کلی واکنش در فیلتر زیستی به دست بیاید. در نتیجه، برای تعیین سینتیک ذاتی تجزیه آلاینده توسط میکروارگانیسم‌ها، باید از دیدگاه میکرو بهره جست [۸]. در بررسی میکرو لازم است تا میکروارگانیسم در یک محیط کشت مایع تلقیح و سپس تغییر غلظت آلاینده موجود در محیط به صورت تابعی از زمان اندازه‌گیری شود. چنین روشی برای تعیین سینتیک رشد میکروبی یا تجزیه زیستی سوبسترا توسط دیگر پژوهشگران نیز مورد استفاده قرار گرفته است [۱۲-۸].

مدل‌های سینتیکی گوناگونی در مقاله‌ها ارایه شده است. در پژوهش *سینگه* [۱۳]، سینتیک تجزیه زیستی پارا ـ کرزول با مدل‌های سینتیکی گوناگونی مانند هالدین، وب، یانو، تزیر و آیبا مورد توجه قرار گرفت و مقدار بیشینه مربعات خطای هر مدل تعیین کننده بهترین مدل بود. همچنین بسیاری از مقاله‌ها برای توجیه سینتیک تجزیه زیستی آلاینده‌ها از مدل سینتیکی مونود و هالدین استفاده کرده‌اند [۹ ، ۸ ، ۳].

در ارزیابی بازده کلی هر فرایند تجزیه زیستی، وابستگی ثابت‌های واکنش زیستی به دما بسیار اهمیت دارد. دما نه تنها بر فعالیت‌های سوخت و ساز جمعیت میکروبی اثر می‌گذارد، بلکه اثری گسترده بر عامل‌هایی چون سرعت انتقال گاز و ویژگی‌های ته‌نشینی مواد جامد زیستی دارد. در پژوهش *جونگ* [۱۲] که در آن تأثیر دما بر روی تجزیه زیستی استایرن در فیلتر زیستی و محیط کشت ناپیوسته مورد بررسی قرار گرفته، حساسیت دما در محیط کشت ناپیوسته بیشتر از سیستم فیلتر زیستی بوده است. بنابراین تأثیر دما بر سینتیک تجزیه زیستی به صورت میکرو بیشتر از ماکرو می‌باشد. اما تأثیر پارامتر عملیاتی دما در سینتیک به صورت میکرو کمتر بررسی شده است. در پژوهش *فردوسی* [۱۴]، اثر دما در بازه‌ی ۳۰-۴۵°C در فیلتراسیون زیستی هگزان مورد توجه قرار گرفت به طوری که در ۳۰°C، همه آلاینده حذف شد ولی با افزایش دما تا ۴۵°C بازدهی به شدت افت کرد.

از سوی دیگر، بیشتر فیلترهای زیستی در تصفیه آلودگی‌های فاز گازی از کشت میکروبی مخلوط نامشخص استفاده می‌کنند. قارچ‌ها در فیلترهای زیستی مفیدتر از باکتری‌ها عمل می‌کنند و این به خاطر توانایی تحمل pH پایین و نوسانات رطوبتی است که در فیلترهای زیستی بسیار اتفاق می‌افتد. در واقع، هایفا مایسل‌های قارچی در تماس با گازها انتقال جرم سریع‌تری نسبت به فیلم زیستی باکتریایی در محیط آبی برای ترکیبات آب‌گریز فراهم می‌کنند [۱۵]. همچنین برخی از پژوهشگران بر این باورند که قارچ‌ها سبب افزایش انحلال پذیری ترکیبات آب‌گریز می‌شوند [۱۶].

از سوی دیگر، به علت رشد میسلیومی قارچ‌ها و کدورت محیط کشت، سنجش توده زیستی به روش‌های متداول مانند کدورت سنجی امکان پذیر نیست. از این رو بر اساس روش‌های اصلاح شده، از نسبت وزن خشک سلولی به وزن محیط کشت به عنوان تخمینی از رشد میسلیومی استفاده می‌شود [۱۷] و تلاش‌های زیادی برای ارایه شاخص‌های فیزیکی و زیست شیمیایی به منظور ارزیابی سریع و دقیق رشد سلولی در طی تخمیر میکروارگانیسم‌های رشته‌ای صورت گرفته است [۱۸].

در این پژوهش، هگزان به عنوان یک آلاینده آلی فرار مهم استفاده شده است. با توجه به خاصیت آب گریزی زیاد و فشار بخار بالای هگزان، این ترکیب به سادگی وارد فاز هوا شده و به سرعت محیط‌های صنعتی را آلوده می‌کند. بر اساس همین ویژگی‌ها، تصفیه آن در فیلترهای زیستی نیز با مشکلاتی روبه رو است. بر خلاف برخی مواد سمی مانند بنزن، تولوئن و فنول که مطالعات سینتیکی فراوانی بر روی آنها انجام شده است، گزارش‌های اندکی برای سینتیک حذف هگزان در فرایند فیلتراسیون زیستی در دسترس است و این بیشتر به خاطر ویژگی آب‌گریزی هگزان است و بیشتر این پژوهش‌ها هم بر روی افزایش انحلال پذیری هگزان

Archive of SID
www.SID.ir

توسط سورفکتانت‌ها صورت گرفته است [۲۰، ۱۹، ۵، ۴].

از این رو، هدف این پژوهش مشخصه سازی سینتیک ذاتی حذف هگزان توسط یک مجموعه قارچی بود که پیش‌تر در یک فیلتر زیستی برای حذف هگزان از آن استفاده شده بود [۱۴]. همچنین تأثیر پارامترهای مهمی از جمله دما و غلظت آلاینده برای داشتن بازدهی حذف بالا مورد توجه قرار گرفت. در پایان مدل‌های سینتیکی گوناگون برای برازش نتیجه‌های آزمایشگاهی به کار گرفته شدند.

بخش تجربی

میکروارگانیسم، محیط کشت و مواد شیمیایی

مجموعه قارچی مورد استفاده در این مطالعه، پیش‌تر از فیلتر زیستی که در پژوهش *فردوسی* [۱۴] روی عملکرد فیلتر زیستی در حذف بخار هگزان انجام شده بود، به دست آمده است. برای تهیه مایه تلقیح، ابتدا میکروارگانیسم‌ها به محیط کشت جامد ۲٪ آگار مغذی منتقل شدند. سپس به مدت سه روز در انکوباتور با دمای ۲۸°C قرار داده شدند. بعد از افزایش و رشد کامل، میکروارگانیسم‌ها به وسیله کاردک استریل شده از روی سطح آگار برداشته شده و به ۱۵۰mL آب مقطر استریل شده اضافه شدند. آن گاه به مدت ۱ ساعت در شیکر انکوباتور با دور ۱۵۰rpm قرار گرفتند تا به صورت محلول سوسپانسیون میکروبی درآیند و سرانجام مقدار ۲۰mL از این محلول جهت انجام آزمایش‌های بعدی به ۵۰mL محیط کشت تلقیح شد. در ابتدا این مقدارها بهینه شدند تا زمان مورد نیاز برای انجام هر آزمایش کاهش یابد.

در این پژوهش، هگزان (با خلوص ۹۸٪) و کلیه مواد شیمیایی به کار رفته در آزمایش‌ها برای تهیه محیط کشت، از شرکت مرک تهیه شدند. ترکیب مواد معدنی محیط کشت به کار رفته، ۰٫۲ گرم بر لیتر $MgSO_4 \cdot 7H_2O$، ۱ گرم بر لیتر K_2HPO_4، ۱ گرم بر لیتر KH_2PO_4، ۰٫۰۵ گرم بر لیتر $FeSO_4 \cdot 7H_2O$، ۱ گرم بر لیتر $(NH_4)_2SO_4$، ۰٫۰۲ گرم بر لیتر $CaCl_2$ می‌باشد.

آزمایش‌ها

آزمایش‌های سینتیکی در سرم بطری‌هایی به حجم کلی ۱۲۰mL با هفت غلظت اولیه هگزان در فاز گازی، ۴٫۷، ۹٫۴، ۱۴٫۱، ۱۸٫۸، ۲۳٫۵، ۲۸٫۳ و ۳۳ mg/L انجام شد که به ترتیب برابر با مقدار ۰٫۵، ۱، ۱٫۵، ۲، ۲٫۵، ۳ و۳٫۵ میکرولیتر در فاز مایع می‌باشند. این مقدارها توسط سرنگ مایع ۱۰μL به سرم بطری‌های دارای ۷۰mL محیط کشت اضافه شده و درب آنها با درپوش ویژه‌ای(۱) بسته شد. هم چنین در تمام آزمایش‌ها دور شیکر انکوباتور مدل (Vision Scientific VS-8480SF) برابر با ۱۵۰rpm بود. پس از آن در بازه‌های زمانی گوناگون از فاز گازی بالای سرم بطری‌ها نمونه‌گیری شد و غلظت فاز گازی توسط کروماتوگرافی گازی سنجیده شد.

با توجه به فراریت زیاد هگزان و خاصیت آب‌گریزی آن، امکان اندازه‌گیری مستقیم غلظت این ماده در فاز مایع وجود ندارد. بنابراین تغییر غلظت آلاینده با کمک اندازه‌گیری مقدار آن در فاز گاز بالای محلول تعیین شد. غلظت هگزان در فاز مایع و گاز را می‌توان به کمک ضریب هنری به هم مربوط کرد و تا زمانی که غلظت هگزان در فاز مایع به صفر نرسیده باشد، تجزیه فاز گازی وجود هگزان را نشان خواهد داد. ضریب‌های هنری بدون بعد برای هگزان در دمای ۲۵ و ۴۰°C به ترتیب برابر۳۱٫۴۳ و ۱۴۲٫۶ می‌باشند [۲۱]. بنابراین مبنای سنجش‌های صورت گرفته غلظت فاز گازی می‌باشد. در مطالعات انجام شده نیز با توجه به پایین بودن غلظت آلاینده در فاز مایع یا از آن صرف نظر شده و یا به صورت مجموع دو فاز گزارش شده است [۲۲، ۱۲، ۸، ۴].

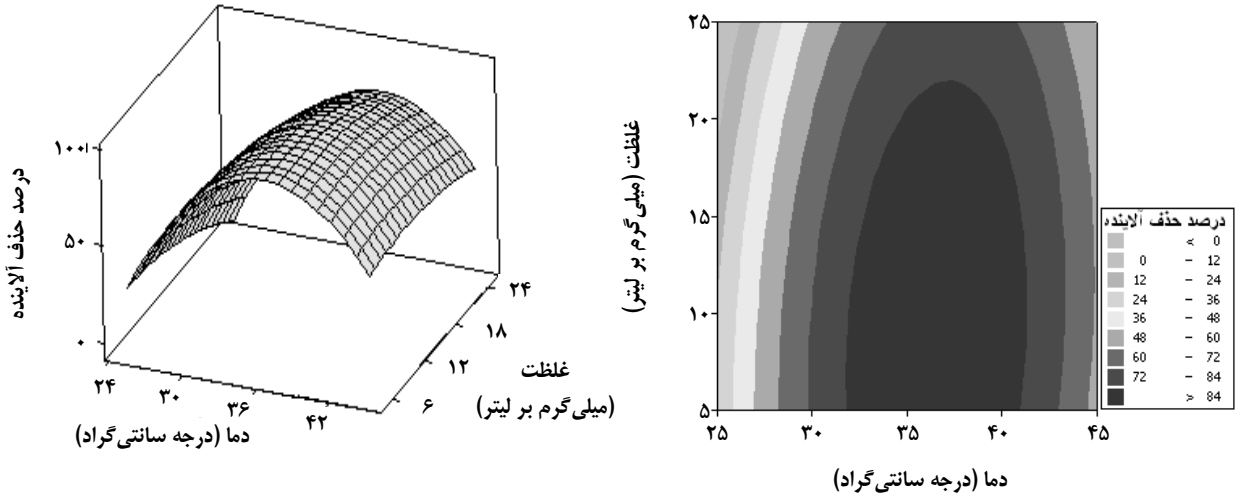
برای اطمینان از هدر نرفتن و خارج نشدن هگزان در زمان انجام آزمایش‌های سینتیک، نمونه‌های کنترلی به صورت همسان با سنجش‌ها، اما بدون افزودن محلول میکروبی فراهم شدند. نتیجه‌ها نشان می‌دهد که در مدت ۸۰ ساعت، غلظت هگزان در فاز گازی تغییر چندانی نداشته است. تمام آزمایش‌ها و اندازه‌گیری‌ها با دوبار تکرار انجام شدند.

روش‌های سنجش

در طول آزمایش‌ها غلظت فاز گازی توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی (مدل Younglin ACME-6100) با ستون TRACSIL TRB-5 (30m×0.53mm×3.0μm) و گاز حامل هلیوم سنجیده شد. دمای تزریق کننده، آشکار ساز و آون به ترتیب ۱۵۰، ۲۴۰ و ۱۲۰°C و شدت جریان گاز حامل برابر ۶ mL/min بودند. نمونه‌گیری توسط سرنگ گازی (همیلتون به حجم کلی ۲٫۵ mL) انجام شد. حجم تزریق به کروماتوگرافی گازی ۰٫۵ mL بود. برای تعیین جرم زیستی از روش وزن سنجی با جرم خشک توده سلولی مطابق با روش‌های استاندارد اندازه‌گیری [۲۳] استفاده شد.

(۱) *Teflon-coated silicon septa and aluminum crimp caps*

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱ـ نمودار سطح و نمودار کرانه‌ای درصد حذف آلاینده در مقابل دما و غلظت.

طراحی آزمایش برای بهینه سازی پارامترها

به منظور بررسی اثر هم زمان دمای عملیاتی و غلظت هگزان بر واکنش زیستی، ابتدا طراحی آماری آزمایش‌ها توسط روش طرح مرکب مرکزی(۱) (CCD) انجام شد. در این روش دما و غلظت آلاینده، پارامترهای مورد بررسی می‌باشند و طراحی به صورت طرح آماری 2^2، با ۴ نقطه محوری، ۵ نقطه مرکزی و ۴ نقطه در رأس، و در مجموع ۱۳ آزمایش برای بهبود شرایط محیط کشت و افزایش تجزیه زیستی به کار گرفته شد. برای داشتن نقاط قابل اندازه‌گیری و مناسب بودن مقدارهای مورد نظر دما و غلظت در ۵ سطح، مقدار α برابر ۲± در نظر گرفته شد و سطح بالا و پایین دما و غلظت به ترتیب ۴۵°C–۲۵ و ۲۵ mg/L–۵ توسط نرم افزار Minitab 15 طراحی شد.

نتیجه‌ها و بحث

چنانچه مقدار P کمتر از ۰/۰۵ باشد، تأثیر متغیر اندازه‌گیری شده در آزمایش‌های آماری معنادار می‌باشد. نتیجه‌های به دست آمده از طراحی آزمایش و تجزیه ANOVA نشان داد که حذف آلاینده برای پارامتر دما به صورت هم خطی و هم از درجه دو معنادار بود. بنابراین فقط پارامتر دما در بازه‌ی مورد بررسی (۴۵°C–۲۵)، تأثیر معناداری بر روی حذف آلاینده داشته است و متغیر غلظت در گستره‌ی (۲۵ mg/L–۵) تأثیر قابل توجهی نداشت.

در شکل ۱ نمودار سطح و نمودار کرانه‌ای درصد حذف آلاینده در مقابل تغییرات دما و غلظت رسم شده است. با دقت در نمودار سطحی دیده می‌شود که درصد حذف آلاینده با افزایش دما از ۲۵°C به ۳۵°C افزایش می‌یابد ولی بعد از ۳۵°C تا ۴۵°C، به ویژه در دمای ۴۵°C این میزان به شدت کاهش می‌یابد که این کاهش میزان حذف، هم به خاطر افزایش ضریب هنری و کاهش حلالیت هگزان است و هم به خاطر کاهش فعالیت جمعیت میکروبی در دمای بالا، این نتیجه در پژوهش *فردوسی* [۱۴] در زمان حذف بخار هگزان از هوا در فیلتر زیستی نیز دیده شده است. تغییر غلظت هگزان در بازه‌ی ۲۵ mg/L–۵ سبب کاهش حذف آلاینده شده و سیر کاهشی درصد حذف دیده شد که این نیز دلیل بازدارندگی ناشی از غلظت‌های بالای آلاینده است.

نمودار کرانه‌ای نیز تأثیر پارامتر دما بر روی حذف را نشان می‌دهد که در مقابل با تأثیر غلظت بر روی حذف، بیشتر بوده است. گستره‌ی سیاه تیره میزان حذف بالاتر از ۸۴٪ می‌باشد که در گستره‌ی دمایی ۴۱°C–۳۳ و غلظت ۲۲mg/L–۵ رخ داده است. همچنین، مقدار بهینه حذف با استفاده از نرم افزار، دمای ۳۶/۵°C و غلظت (۸/۶(mg/L به دست آمده است.

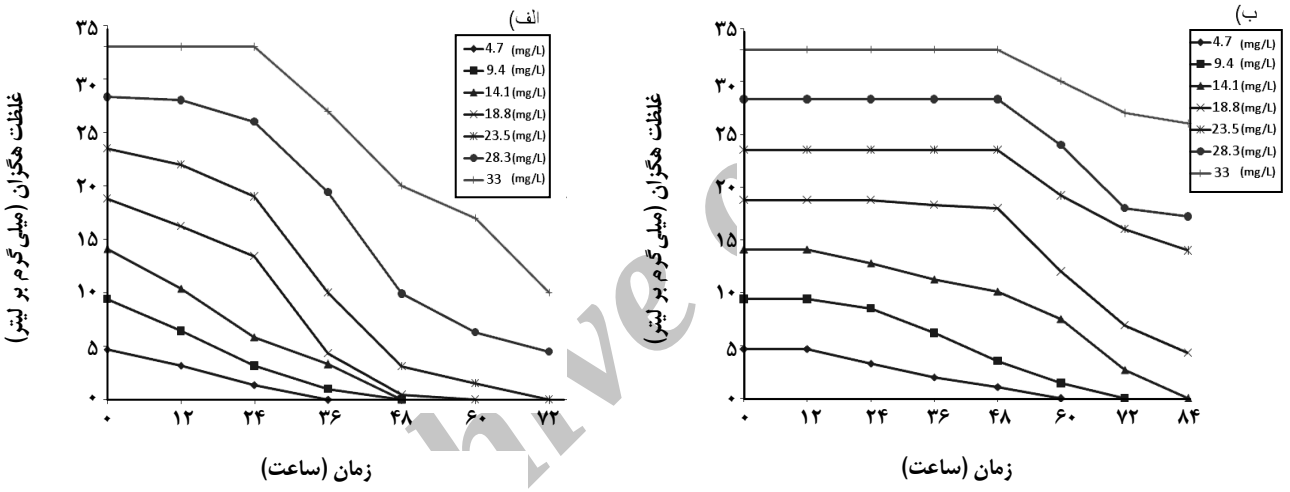
با توجه به نتیجه‌هایی که به دست آمد، دو دمای ۲۵ و ۴۰°C برای بررسی سینتیکی تجزیه زیستی هگزان و تأثیر دما بر روی پارامترهای سینتیکی، در آزمایش های بعدی مورد توجه قرار گرفت. در آزمایش‌های تعیین سینتیک حذف، غلظت اولیه توده زیستی در تمامی مراحل مقدار یکسانی در نظر گرفته شده است. این مقدار با اندازه‌گیری وزن خشک توده زیستی در ۷۰mL محیط کشت، برابر ۳۹/۲±۱۰mg/L بود.

(۱) Central Composite Design

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱ـ مقدارهای به دست آمده برای پارامترهای مدل‌های سینتیکی مختلف با در نظر گرفتن بازدارندگی سوبسترا در دمای ۲۵ و ۴۰°C.

	نام	مدل‌های سینتیکی با سوبسترای بازدارنده [۱۳]	مقدارهای تجربی پارامترهای بدست آمده								R^2	
			v_{max}(mgHexane/gbiomass.h)		K_S (mg/L)		K_I (mg/L)		K (mg/L)			
			۲۵	۴۰	۲۵	۴۰	۲۵	۴۰	۲۵	۴۰	۲۵	۴۰
۱	هالدین	$v= v_{max}S/(S+K_S+S^2/K_I)$	۲/۱۲۵	۳/۵۷	۱۰/۱۷	۹/۵۷	۱۹/۶	۲۰/۴۸	–	–	۰/۹۵۴	۰/۹۸۳
۲	وب	$v= v_{max}S(1+S/K)/(S+K_S+S^2/K_I)$	۶/۸	۴/۴۳	۱۸/۸۵	۱۰/۳۲	۱۶/۹۱	۲۰/۲۸	۶۵/۱۶	۲۰۴/۶	۰/۹۶۹	۰/۹۸۵
۳	یانو	$v= v_{max}S/(S+K_S+S^2/K_I(1+S/K))$	۲/۶۸	۶/۷۷	۲/۲۸	۱۳/۶	۱۳/۴۵	۲۵/۵۷	۳۰/۳۶	۴۱/۵۶	۰/۹۷۵	۰/۹۸۷
۴	تزیر	$v= v_{max}[\exp(-S/K_I) - \exp(-S/K_S)]$	۲۹/۳۲	۳۴/۵۲	۱۲/۸۸	۱۳/۴۴	۱۳/۴	۱۳/۷۶	–	–	۰/۹۲	۰/۸۸
۵	آیبا	$v= v_{max}S[\exp(-S/K_I)]/(S+K_S)$	۲۵/۸۳	۲۲/۹۵	۴۷/۸۵	۱۶/۶۵	۱۷/۵۴	۱۵/۸۴	–	–	۰/۷۷	۰/۸۶
۶	اندریوس	$v= v_{max}S/((S+K_S)(1+S/K_I))$	۷/۵۳	۲/۳۴	۶/۷۸	۱۹/۱۷	۵۷/۴۷	۲۰	–	–	۰/۴۲	۰/۴۲
۷	نمایی	$v= v_{max}S/[(S+K_S).\exp(-S/K_I)]$	–	۸۸/۲۴	–	۶۲/۰۲	–	۱۴/۹۲	–	–	–	۰/۸۲



شکل۲. تغییرهای غلظت هگزان با زمان در غلظت اولیه‌های مختلف. الف) ۴۰ °C؛ ب) ۲۵ °C.

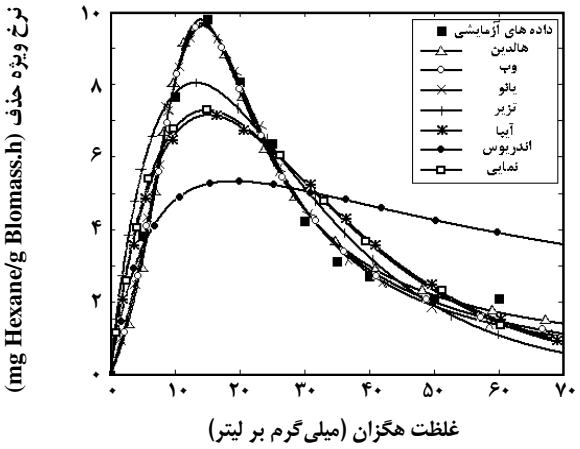
در شکل (۲.الف و ب) تغییرهای غلظت هگزان با زمان برای غلظت‌های اولیه گوناگون به ترتیب در دمای ۴۰ و ۲۵ °C رسم شده است. همانگونه که در شکل (۲.الف) دیده می‌شود، حذف کامل هگزان در دمای ۴۰°C برای تمام غلظت‌های اولیه مورد مطالعه به دست آمد. اما با توجه به شکل (۲.ب) این مجموعه میکروبی در دمای ۲۵°C نتوانست غلظت‌های بالای هگزان (۲۳/۵، ۲۸/۳ و ۳۳ mg/L) را در طول ۸۴ ساعت به طور کامل تجزیه کند. همچنین تجزیه زیستی آن در این دما بعد از یک تأخیر زمانی شروع شد که شاید مربوط به کندی و تعویق رشد میکروارگانیسم‌ها در دمای ۲۵°C است. تأثیر بازدارندگی غلظت‌های بالای هگزان در این نمودارها نیز به طور روشن قابل دیدن است. همچنین در بازه‌ی غلظتی بالاتر، ۶۰mg/L–۳۳ هگزان، به تقریب هیچ حذفی دیده نشد (نتیجه‌های اریه نشده است).

نرخ حذف[۱] (DR) از روی شیب اولیه هر یک از منحنی‌های غلظت محاسبه می‌شود. نرخ ویژه حذف[۲] (SDR) نیز از تقسیم شیب نمودار بر غلظت اولیه توده زیستی به دست می‌آید. با توجه به نتیجه‌ها باید به دنبال یافتن مدل مناسبی بود که بتواند به درستی و با کمترین مقدار خطا نرخ ویژه حذف هگزان را به غلظت آن مربوط کند. در جدول ۱ مدل‌های سینتیکی مورد استفاده در این پژوهش نشان داده شده است تا تفاوت پارامترهای هر مدل با مدل دیگر از نزدیک قابل مقایسه باشد.

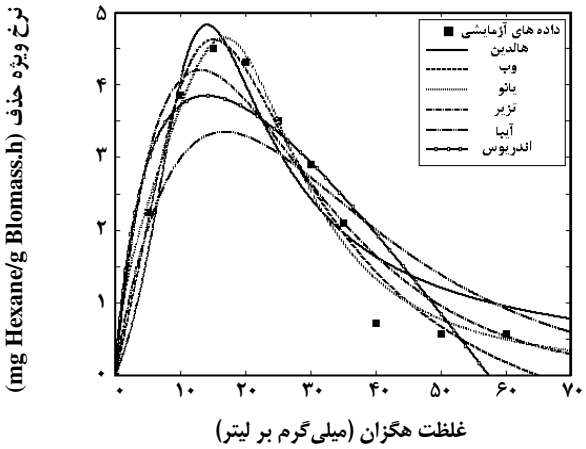
(۱) Degradation Rate

(۲) Specific Degradation Rate

www.SID.ir



شکل ۳ـ تغییر نرخ ویژه حذف با غلظت اولیه هگزان در دمای ۴۰°C.



شکل ۴ـ تغییر نرخ ویژه حذف با غلظت اولیه هگزان در دمای ۲۵°C.

با توجه به نتیجه‌ها مشخص است که سوبسترای مورد مطالعه اثر بازدارندگی روی بیشینه تجزیه زیستی دارد و بعد از یک غلظت معینی هرچه غلظت‌ها بالاتر می‌روند نرخ حذف آلاینده کاهش می‌یابد. بنابراین داده‌ها با این مدل‌های پیش بینی کننده بازدارندگی برازش شدند تا با مقایسه مقدار تقریب مربعات خطا، بهترین مدل تعیین شود. این کار به کمک نرم افزار MATLAB 7.8 انجام شد. شکل ۳ تغییر نرخ ویژه حذف هگزان در دمای ۴۰°C بر حسب غلظت‌های اولیه گوناگون آن توسط مدل‌های گوناگون سینتیکی را نشان می‌دهد. مدل‌های آیبا، تزیر، اندریوس و نمایی کمتر با داده‌ها تطابق دارند. از این رو انتخاب بهترین مدل بین مدل هالدین، وب و یانو توسط مقدار تقریب مربعات خطا R^2 تعیین می‌شود. در جدول ۱ مقدارهای به دست آمده پارامترهای مربوط به مدل‌های سینتیکی در دمای ۴۰°C به همراه مقدار مربعات خطای هر مدل ارائه شده است.

بررسی مقدارهای R^2 نیز این نتیجه را نشان می‌دهد که مدل‌های سینتیکی هالدین، وب و یانو پیشگویی خوب و قابل مقایسه‌ای با مقدار بالای R^2 (۰/۹۸<) به دست می‌آید. ولی از آنجایی که استفاده از مدل‌های پیچیده با چهار پارامتر و توجیه کردن آن‌ها برای بهینه‌سازی نتیجه اشکالاتی به همراه دارند، مدل سینتیکی هالدین برای حذف هگزان توسط این مجموعه قارچی انتخاب شده است. هم چنین این مدل به خاطر شکل ساده ریاضی، برای بررسی سینتیک با یک سوبسترای بازدارنده بر دیگر مدل‌ها برتری دارد.

این روش کار برای تجزیه زیستی در دمای ۲۵°C نیز انجام شد.

در شکل ۴ تغییرات نرخ ویژه حذف با غلظت‌های اولیه هگزان در دمای ۲۵°C نشان داده شده است. در جدول ۱ مقدارهای به دست آمده پارامترهای مربوط به مدل‌های سینتیکی در دمای ۲۵°C نیز به همراه مقدار مربعات خطای هر مدل نشان داده شده است. اگرچه در این دما هم سه مدل سینتیکی هالدین، وب و یانو تطابق بهتری دارند و به تقریب مقدار R^2 هم مناسب است اما استفاده از مدل هالدین ترجیح داده می‌شود.

مقدار عددی K_S تمایل توده زیستی به سوبسترا را نشان می‌دهد [۲۴]. مقادیر پایین K_S تمایل بالای توده زیستی به سوبسترا است که در چنین حالتی سرعت رشد نیز زیاد می‌باشد. در تمام مدل‌های سینتیکی مقدار K_S به دست آمده، در بازه‌ی (mg/L)۹/۵۷–۱۹/۱۷ در دمای ۴۰°C، به جز مدل نمایی، و در بازه‌ی (mg/L)۲/۲۸–۴۷/۸۵، در دمای ۲۵°C است. گرچه با ضریب‌های گوناگون R^2، این مقدارها سینتیکی توسط مدل‌های سینتیکی گوناگون چندان قابل مقایسه نیستند. بنابراین با انتخاب مدل هالدین، مقدار K_S برابر (mg/L)۹/۵۷ در دمای ۴۰°C و (mg/L)۱۰/۱۷ در دمای ۲۵°C است. همان‌طور که دیده می‌شود اختلاف دو عدد چندان زیاد نیست.

مقدار عددی پارامتر سینتیکی K_I نشان دهنده اثر بازدارندگی سوبسترا روی ساز و کار حذف هگزان توسط میکروارگانیسم‌های موجود در محیط کشت است. مقادیر بالای K_I نشان می‌دهد که توده زیستی مقاومت زیادی در مقابل سوبسترای بازدارنده دارد [۲۴]. با توجه به جدول ۱ مقدارهای K_I برای مدل‌های سینتیکی گوناگون در بازه‌ی (mg/L)۱۳/۷۶–۲۵/۵۷ در دمای ۴۰°C و

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲ـ مقایسه پارامترهای سینتیکی مدل هالدین در مطالعات مختلف در سیستم ناپیوسته.

گونه میکروبی	سوبسترا	v_{max}(mg/g biomass.h)	K_S(mg/L)	K_I(mg/L)	دما (°C)	مرجع
مجموعه قارچی جداشده از فیلتر زیستی	هگزان	۳/۵۷	۹/۵۷	۲۰/۴۸	۴۰	این پژوهش
Fusarium solani B1	هگزان	۷	۱/۹	۳۰	۳۰	[۱۹]
Rhodococcus sp. EC1	هگزان	۳۱/۰۴۶ [a]	۳۴۴/۷۲	–	۳۰	[۲۲]
مجموعه باکتری جداشده از فیلتر زیستی	تولوئن	۹۲/۸ [b]	۶۷/۸	۰/۷	۲۵	[۹]
Pseudomonas putidaPPO1	تولوئن	۲/۲۵	۱۵/۱	۴۴/۴	۳۰	[۲۵]
Rhodococcus pyridinovorans PYJ-1	استایرن	۲۱۰ [b,c]	۱۲۸/۸	۱۵۵	۳۲	[۱۲]
مجموعه باکتری جداشده از فیلتر زیستی	استایرن	۲۳/۲۲ [b]	۳/۴۹	۲۶/۵۵	۲۵	[۸]
Gliomastix indicus MTCC	p-cresol	۰/۵۸ [b]	۳۶/۲۲	۵۵/۱	۲۸	[۱۳]
P. putida MTCC 1194	فنول	۰/۴۶۹ [b]	۳۶	۱۲۹	۳۰	[۲۶]

a) از ضریب تبدیل 1μmol=.086 mg/L برای هگزان استفاده شده است.

b) داده‌ها بر اساس سرعت ویژه رشد برحسب (h^{-1}) ذکر شده بودند. در اینجا با احتساب ضریب بازده $y_{x/s}$ به واحد مورد نظر تبدیل شده‌اند.

c) مقدار پروتئین ذکر شده به صورت نصف میزان توده زیستی در نظر گرفته شده است.

۱۳/۴–۵۷/۴۷(mg/L) در دمای ۲۵°C تغییر می‌کند. در مدل هالدین، مقدار K_I حدود ۲۰/۴۸(mg/L) در دمای ۴۰°C و ۱۹/۶(mg/L) در دمای ۲۵°C است. در اینجا نیز این دو مقدار تفاوت چندانی با یکدیگر ندارند. بنابراین دما اثر کمی روی ثابت‌های بازدارندگی و اشباع می‌گذارد.

در حقیقت از نظر مفهومی، این مقدارها تنها به سوبسترا و میکروارگانیسم ربط دارند و عامل‌هایی مانند دما نباید چندان اثری روی آن‌ها داشته باشد که در اینجا هم، این‌گونه است. دما فقط روی بیشینه سرعت تأثیر دارد. این نتیجه از نرخ ویژه حذف قابل دیدن است، به طوری که بیشترین نرخ ویژه حذف ۲/۱۲(mg/gBiomass·h) در دمای ۲۵°C، کمتر از مقدار ۳/۵۷(mg/gBiomass·h) در دمای ۴۰°C است. با توجه به اینکه تجزیه زیستی در دمای ۲۵°C بعد از یک تأخیر زمانی شروع می‌شد، تجزیه زیستی هگزان در دمای ۴۰°C موفق‌تر بوده است. بنابراین مبنای بررسی دیگر نتیجه‌های این پژوهش، دمای ۴۰°C خواهد بود.

در جدول ۲ پارامترهای به دست آمده در مطالعه‌های گوناگون دیده می‌شود. این پژوهش‌ها در شرایط مشابه بررسی سینتیک در سامانه ناپیوسته و در سرم بطری انجام شده‌اند. هرچه بیشینه نرخ ویژه حذف v_{max} در مدل سینتیکی هالدین عدد بزرگتری باشد به این معنی است که نرخ ویژه حذف توسط گونه میکروبی خالص یا جمعیت میکروبی بالاتر است. در موردهای همانند هگزان به عنوان سوبسترا، گونه خالص باکتریایی *رودوکوکوس* نرخ حذف بیشتری داشته است. نتیجه به دست آمده از این پژوهش، نسبت به میکروارگانیسم *فیوساریوم سولانی* در بازه‌ی به تقریب برابر ولی کمتری قرار دارد. کمتر بودن بیشینه حذف برای مجموعه باکتری جداشده از فیلتر زیستی وقتی که سوبسترا استایرن بوده نیز دیده شده است.

ثابت K_S در مدل هالدین هرچه عدد کوچکتری باشد، مقدار نرخ ویژه حذف بالاتر خواهد بود. ثابت نیمه سرعت به دست آمده در مطالعه ما از مقدار همانند گونه خالص باکتریایی *فیوساریوم سولانی* بیشتر می‌باشد اما نسبت به مطالعات دیگر به طور کل کمتر و بهتر است.

هرچه مقدار ثابت بازدارندگی سوبسترا برای مدلی بالاتر باشد جمعیت میکروبی یا گونه خالص مورد مطالعه حساسیت کمتری نسبت به سوبسترای بازدارنده دارد و بالعکس. از صورت کلی معادله هالدین مشخص است که هرچه ثابت بازدارندگی سوبسترا عدد بزرگتری باشد جمله‌ی بیان کننده بازدارندگی S^2/k_i، در غلظت‌های بالاتر اهمیت می‌یابد. همانگونه که می‌دانیم بازدارندگی هر سوبسترا با سوبسترای دیگر نیز تفاوت خواهد داشت. ثابت بازدارندگی سوبسترا در این مطالعه با گونه خالص *فیوساریوم سولانی* در نوع سوبسترایی هگزان، و هم چنین مخلوط باکتری استخراج شده از فیلتر زیستی با سوبسترای استایرن تفاوت چندان چشمگیری ندارد. در بقیه موردها با توجه به نوع سوبسترا و نوع میکروارگانیسم مقدارهای متفاوتی از بازدارندگی دیده می‌شود.

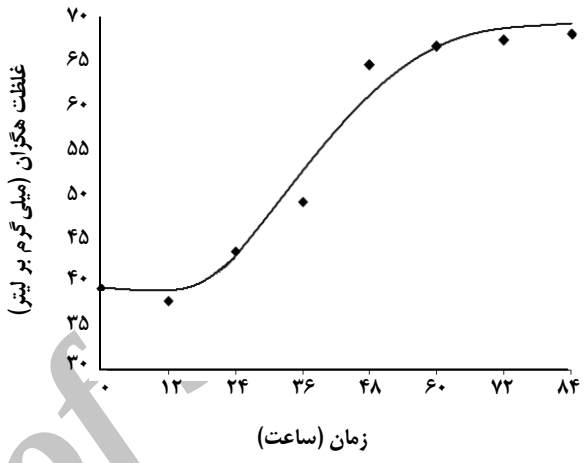
در جدول ۳ مقایسه بین غلظت‌های مربوط به بیشینه نرخ ویژه حذف در مطالعه‌های گوناگون صورت گرفته است.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۳ـ مقایسه غلظت هگزان در بیشینه حذف بین پژوهش‌های انجام گرفته در شرایط سینتیکی همانند.

گونه میکروبی	غلظت مربوط به ماکزیمم نرخ ویژه حذف (mg/L)	دما (°C)	مرجع
مجموعه قارچی جداشده از فیلتر زیستی	۱۳/۹۹	۴۰	این پژوهش
Fusarium solani B1	۷/۵۴ [a]	۳۰	[۱۹]
Rhodococcus sp. EC1	۶/۵۱۸ [a]	۳۰	[۲۲]

a) محاسبه شده با استفاده از داده‌های k_s و k_i ذکر شده در مرجع.



شکل ۵ ـ تغییرات غلظت توده زیستی با زمان برای غلظت اولیه هگزان ۱۴/۱ mg/L.

هرچه این غلظت برای گونه‌ای زیادتر باشد نشان دهنده این واقعیت است که تا غلظت‌های بالاتری می‌توان هگزان را بدون اثر بازدارندگی حذف کرد. در مطالعه ما این غلظت از مقدار همانند برای مطالعه‌های دیگر بیشتر می‌باشد. با انجام محاسبه‌ها، بر اساس مشتق مدل هالدین این مقدار غلظت (جذر حاصل ضرب K_S در K_I [۲۴])، برابر ۱۳/۹۹(mg/L) به دست آمده است.

با وجود برتری‌های گفته شده برای استفاده از قارچ‌ها به جای گونه باکتریایی برای حذف آلاینده ها، نباید انتظار داشت که تمام پارامترهای سینتیکی به دست آمده برای مجموعه قارچی جدا شده از فیلتر زیستی، بهتر از سایر گونه‌های خالص باشد. از عددهای جدول ۳ این نتیجه برداشت می‌شود که مجموعه قارچی نسبت به گونه‌های خالص توانایی بالاتری در مقاومت از بازداشته شدن توسط سوبسترا دارد ولی با توجه به نتیجه‌های به دست آمده از جدول ۲ چنین انتظاری برای دیگر پارامترها برآورد نمی‌شود و درکل مجموعه میکروبی در جاهایی بهتر و در مواردی ضعیف‌تر عمل می‌کند.

یادآوری این نکته لازم است که این مجموعه قارچی از فیلتر زیستی که پیش‌تر برای تجزیه هگزان به کار گرفته شده بود جداسازی شده و در زمان کار این فیلتر زیستی علاوه بر تلقیح قارچ، از میکروارگانیسم‌های موجود در بستر کمپوست نیز استفاده شده است. زیرا خود کمپوست دارای مجموعه غنی میکروبی با گونه‌های گوناگون است. بنابراین باید به این نکته توجه کرد که این مجموعه، ترکیبی از گونه‌های گوناگون قارچی است که قابلیت این گونه‌ها برای حذف هگزان ممکن است با یکدیگر تفاوت داشته باشند. در بررسی حذف هگزان یا هر آلاینده دیگری با جمعیت میکروبی جدا شده از فیلتر زیستی فرض بر این قرار داده می‌شود که میکروب‌ها مانند یک گونه جدید رفتار می‌کنند که نماینده تمام گونه‌های موجود در آن است. در مطالعه‌های دیگر ممکن است یک گونه خالص که قابلیت بسیار بالایی برای حذف هگزان دارد مورد استفاده قرار گیرد و روشن است که عملکرد بهتری از یک مجموعه میکروبی خواهد داشت. نکته‌ای که در مورد این مجموعه میکروبی انکار نشدنی و منحصر به فرد است، عملی بودن اجرای آن در مقیاس صنعتی است. در واقع انجام عملیات تصفیه هوا با فیلتر زیستی حاوی یک مجموعه میکروبی دست نخورده، بسیار اقتصادی‌تر و عملی‌تر از گونه‌های خالص است، حتی اگر بازدهی بالاتری داشته باشند.

با در نظر گرفتن فاز لگاریتمی برای رشد میکروبی، اگر نموداری از $\ln x/x_0$ در برابر زمان رسم شود شیب خط به دست آمده برابر با نرخ ویژه رشد خواهد بود [۲۴]. در شکل ۵ تغییر غلظت توده زیستی با زمان برای غلظت اولیه هگزان ۱۴/۱ mg/L (۱/۵ μL) در دمای ۴۰ °C رسم شده است. در این غلظت، بهترین میزان رشد دیده شده است.

از آنجایی که منحنی رشد میکروبی دارای شکل S مانند است، معادله‌ای که بتواند این شکل را پیش بینی کند معادله لجستیک می‌باشد [۲۴].

Archive of

www.SID.ir

$$x = \frac{x_\circ \exp(kt)}{1-(x_\circ/x_\infty)(1-\exp(kt))} \quad (1)$$

در این معادله k ثابت وابسته به رشد (h^{-1}) و X_0 غلظت اولیه توده زیستی (mg/L) و X_∞ ماکزیمم غلظت توده زیستی (mg/L) است. این معادله توسط نرم‌افزار MATLAB با داده‌های آزمایشگاهی برازش شده تا میزان تطابق این معادله با نتایج به دست آید. مقدار k و R^2 توسط نرم افزار به ترتیب (h^{-1}) ۰/۰۳۵ و ۰/۹۸۵ به دست آمده‌اند.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، سینتیک تجزیه زیستی هگزان توسط یک مجموعه قارچی جداشده از فیلتر زیستی مورد بررسی قرار گرفت. این مجموعه میکروبی به یک محیط کشت مایع با ترکیب مواد مغذی مشخص که دارای غلظت‌های معلومی از آلاینده بود، تلقیح شد. در ابتدا طراحی آماری آزمایش‌ها، طرح مرکب مرکزی (CCD)، برای بررسی اثر دما و غلظت هگزان بر حذف آن به کار گرفته شد. طبق طرح مرکب مرکزی، این مجموعه قارچی با مصرف هگزان در بازه‌ی دمایی ۴۵°C–۲۵ و غلظت ۲۵mg/L–۵ ، بهترین تجزیه را در دمای ۳۶/۵°C و غلظت (mg/L)۸/۶ نشان داد.

مقایسه تأثیر دما بر سینتیک تجزیه زیستی هگزان در دوسطح دمایی ۲۵ و ۴۰°C و در بازه‌ی غلظتی mg/L ۳۵–۵ انجام شد. مدل‌های سینتیکی گوناگون با نتیجه‌های آزمایشگاهی برازش شدند و از این روش پارامترهای سینتیکی تعیین شد و میزان تطابق هر مدل مورد بررسی قرار گرفت. از میان مدل‌های گوناگون، مدل سینتیکی هالدین تطابق بهتری با نتایج آزمایشگاهی داشت. همچنین تجزیه زیستی هگزان توسط این مجموعه قارچی در دمای ۴۰°C نسبت به دمای ۲۵°C موفق‌تر بوده است. به گونه‌ای که بیشترین نرخ ویژه حذف (mg/gBiomass·h)۲/۱۲ در دمای ۲۵°C و (mg/gBiomass·h)۳/۵۷ در دمای ۴۰°C به دست آمد.

نمادها

ثابت معادله وب و یانو، mg/L	K
ثابت بازدارندگی، mg/L	K_i
ثابت نیمه سرعت، mg/L	K_s
ضریب همبستگی	R^2
غلظت سوبسترا، mg/L	S
غلظت توده زیستی، mg/L	X
نرخ ویژه حذف، mg/g biomass.h	v
ماکزیمم نرخ ویژه حذف، mg/g biomass.h	v_{max}

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۰/۲۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۲/۲۵

مراجع

[1] Kennes Ch., Thalasso F., Review: Waste Gas Biotreatment Technology, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **72**, p. 303 (1998).

[2] Ellis T., Anselm C., Effect of Batch Discharges on Extant Biodegradation Kinetics in Activated-Sludge Systems, *Water Environ. Res.*, **71**(3), p. 290 (1999).

[3] Arcangeli J., Arvin E., Modeling the Growth of a Methanotrophic Biofilm: Estimation of Parameters and Variability, *Biodegradation,* **10**, p. 177 (1999).

[4] Arriaga S., Revah S., Improving Hexane Removal by Enhancing Fungal Development in a Microbial Consortium Biofilter, *Biotechnol. Bioeng.,* **90**, p. 107 (2005).

[5] Munoz R., Arriaga S., Hernandez S., Enhanced Hexane Biodegradation in a Two Phase Partitioning Bioreactor: Overcoming Pollutant Transport Limitations, *Process Biochem.,* **41**, p. 1614 (2006).

[6] Zamir S.M., Halladj R., Nasernejad B., Removal of Toluene Vapors Using a Fungal Biofilter under Intermittent Loading, *Process Saf. Environ. Protect.,* **89**, p. 8 (2011).

Archive of SID
www.SID.ir

[۷] صدرایی، س. م.، "حذف ترکیبات آلی فرار از هوا به وسیله یک بیوفیلتر تلقیح شده با قارچ"، پایان نامه کارشناسی ارشد مهندسی شیمی ـ بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر (۱۳۸۸).

[8] Jorio H., Brzezinski R., Heitz M., A Novel Procedure for the Measurement of the Kinetics of Styrene Biodegradation in a Biofilter, *J. Chem. Technol. Biotechnol.,* **80**, p. 796 (2005).

[9] Delhomenie M., Nikiema J., Bibeau L., Heitz M., A New Method to Determine Themicrobial Kinetic Parameters in Biological Air Filters, *Chem. Eng. Sci.,* **63**, p. 4126 (2008).

[10] Kim J., Oh K., Lee S., Kim S., Biodegradation of Phenol and Chlorophenols with Defined Mixed Culture in Shake-Flasks and a Packed Bed Reactor, *Process Biochem.,* **37**, p. 1367 (2002).

[11] Ottengraf S.P.P., Van den Oever A., Kinetics of Organic Compound Removal from Waste Gases with a Biological Ffilter, *Biotechnol. Bioeng.,* **25**, p. 3089 (1983).

[12] Jung I., Park Ch., Characteristics of Styrene Degradation by *Rhodococcus Pyridinovorans* Isolated from a Viofilter, *Chemosphere,* **61**, p. 451 (2005).

[13] Singh R.K., Kumar Sh., Kuma, S., Kumar A., Biodegradation Kinetic Studies for the Removal of *p*-Cresol from Wastewater Using *Gliomastix indicus* MTCC 3869, *Biochem. Eng. J.,* **40**, p. 293 (2008).

[۱۴] فردوسی، م.، "بررسی اثر دما و سیستم‌های هوادهی پیوسته و ناپیوسته در حذف آلاینده‌های آلی در فرایند بیوفیلتراسیون"، پایان نامه کارشناسی ارشد مهندسی شیمی ـ بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر (۱۳۸۹).

[15] Moe W., Qi B., Performance of a Fungal Biofilter Treating Gas-Phase Solvent Mixtures During Intermittent Loading, *Water Res.,* **38**, p. 2259 (2004).

[16] Maestre J., Gamisans X., Gabriel D., Lafuente J., Fungal Biofilters for Toluene Biofiltration: Evaluation of the Performance with Four Packing Materials under Different Operating Conditions, *Chemosphere,* **67**, p. 684 (2007).

[۱۷] رستم‌زا، م.، حامدی، ج.، نوحی، ا.، شیرابه ذرت، یک منبع نیتروژنی مناسب برای محیط پیش کشت *Saccharopolyspora erythraea* و تولید اریترومایسین، *نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران*، (۱)**۲۸**، ص. ۹۷ (۱۳۸۸).

[۱۸] حامدی، ج.، مقیمی، ح.، صراف زاده، م.ح.، کفاشی، ب.، سنجش میزان رشد *Streptomyces clavuligerus* در محیط تولید کلاولانیک اسید با استفاده از معیار ثابت غلظت، *نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران*، (۴)**۲۷**، ص. ۶۹ (۱۳۸۷).

[19] Fernandez A., Haaren B.V., Revah S., Phase Partition of Gaseous Hexane and Surface Hydrophobicity of *Fusarium Solani* When Grown in Liquid and Solid Media with Hexanol and Hexane, *Biotechnol. Lett.,* **28**, p. 2011 (2006).

[20] Fazaelipoor M.H., Shojaosadati S.A., Farahani E.V., Two Liquid Pphase Biofiltration for Removal of n-Hexane from Polluted air, *Environ. Eng. Sci.,* **23**, p. 954 (2006).

Archive of SID
www.SID.ir

[21] Ashoworth R.A., Howe G.B., Mullins M.E., Rogers T.N., Air-Water Partitioning Coefficients of Organics in Dilute Aqueous Solutions, *J. Hazard. Mater.,* **18**, p. 25 (1988).

[22] Lee E., Cho K., Characterization of Cyclohexane and Hexane Degradation by *Rhodococcus sp.* EC1, *Chemosphere,* **71**, p. 1738 (2008).

[23] APHA, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 19th ed., American Public Health Association, Washington, DC, USA. (1995).

[24] Shuler M.L., Kargi F., "Bioprocess Engineering", Prentice-Hall Inc., New Jersey, (1992).

[25] Oh Y.S., Shareefdeen Z., Baltzis B.C., Bartha R., Interaction Between Benzene, Toluene, and p-Xylene During Their Degradation, *Biotechnol. Bioeng.,* **44**, p. 533 (1994).

[26] Kumar A., Kumar Sh., Kumar S., Biodegradation Kinetics of Phenol and Catechol Using *Pseudomonas Putida* MTCC 1194, *Biochem. Eng. J.,* **22**, p. 151 (2005).

Archive of SID

www.SID.ir