

علوم و تکنولوژی محیط زیست، دوره نوزدهم، شماره سه، پاییز ۹۶

## حذف آمونیاک از پساب با استفاده از کنسرسیوم باکتری‌های بومی جداسازی شده از پساب پتروشیمی کرمانشاه

مهدی گودینی<sup>۱</sup>

حاتم گودینی<sup>\*۲</sup>

[godini\\_h@yahoo.com](mailto:godini_h@yahoo.com)

فرهاد سلیمی<sup>۳</sup>

تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۲۴

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۱۶

### چکیده

**زمینه و هدف:** نیتروژن آمونیاکی یکی از مهم ترین آلاینده‌های محیط زیستی محسوب می‌شود که میزان آن در پساب صنایع پتروشیمی خصوصاً واحدهای تولید کننده آمونیاک و اوره بالا می‌باشد. در این مطالعه از روش بیولوژیکی با استفاده از کنسرسیوم باکتری‌های بومی جداسازی شده از صنعت پتروشیمی برای حذف آمونیاک و نیترات استفاده شده است.

**روش بررسی:** مطالعه به صورت ناپیوسته انجام شده و اثر غلظت اولیه، pH و زمان ماند مورد بررسی قرار گرفته است. غلظت اولیه باکتری‌های نیتریفایر و دنیتریفایر  $3 \times 10^8$  CFU/ml در نظر گرفته شده است. میزان غلظت اولیه آمونیاک و نیترات ۲۰۰-۵۰ میلی گرم بر لیتر و زمان ماند ۱۶۸-۳ ساعت، pH های ۵، ۶، ۷، ۸ و ۹ مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که باکتری‌های بومی جداسازی شده از پساب پتروشیمی کرمانشاه با جمعیت میکروبی  $3 \times 10^8$  CFU/ml در pH ۸، قادر به حذف آمونیاک و نیترات با راندمان ۹۹/۵ درصد با غلظت اولیه تا ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر با زمان تماس ۴ روز برای باکتری‌های نیتریفایر و ۶ روز برای باکتری‌های دنیتریفایر بوده است.

**بحث و نتیجه‌گیری:** باکتری‌های بومی جداسازی شده توانایی بالایی جهت فرآیندهای نیتریفیکاسیون و دنیتریفیکاسیون داشته، لذا با استفاده از باکتری‌های بومی جداسازی شده می‌توان آمونیاک موجود در پساب تولیدی را با راندمان بالا حذف نمود و نیازهای استاندارد محیط زیستی مربوط به تخلیه پساب به محیط را فراهم نمود.

**واژه های کلیدی:** حذف آمونیاک، باکتری‌های بومی، زمان ماند pH، پساب صنایع پتروشیمی

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه مهندسی شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

۲- دانشیار گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران (مسئول مکاتبات).

۳- استادیار گروه مهندسی شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

## **Ammonia removal from effluent using isolated native bacteria from Kermanshah Petrochemical Industries effluent**

**Mehdi Gowdini<sup>1</sup>**

**Hatam Godini<sup>2\*</sup>**

[godini\\_h@yahoo.com](mailto:godini_h@yahoo.com)

**Farhad Salimi<sup>3</sup>**

### **Abstract**

**Background and purpose:** Ammonia-Nitrogen is considered one of the environmental pollutants, these pollutants have high concentrations in petrochemical effluent specially, Ammonia and Urea plants. In this study, biological methods using native bacteria consortia isolated from petrochemical industry has been used for nitrate and ammonia removal.

**Methods:** This study has been carried out in batch mode and the effects of initial concentrations; pH and retention time has been investigated. The initial concentrations of  $3 \times 10^8$  CFU/ml of nitrifier and denitrifier bacteria has been used. An initial ammonia and nitrate concentrations of 50-200 mg/l as well as the retention time 3-168 hours and also pH 5,6,7,8 and 9 were studied.

**Finding:** The results showed that the native bacteria isolated from petrochemical industry with a population of  $3 \times 10^8$  CFU/ml in pH 8 were able to remove ammonia and nitrate with a initial concentrations of 200 mg/l with 99.5% efficiency in a retention time 4 days for nitrifier, and 6 days for denitrifier bacteria.

**Discussion and conclusion:** The isolated native bacteria had a powerful effect in the nitrification and denitrification processes, so effluent ammonia can be removed with high efficiency by isolated native bacteria, and needs for environmental standards can be applied for effluent discharge.

**Key words:** Ammonia removal, Native Bacteria, Retention Time, Petrochemical Industries Effluent.

---

1- MSc in Chemical Engineering, Department of Chemical Engineering, College of Science, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

2- Associate Professor, Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Health, Alborz University of Medical Science. Karaj, Iran \*(Corresponding Author).

3- Assistant Professor, College of Science, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

## مقدمه

دنیتریفایر بوده است (۴). ژانگ و همکاران نیز با استفاده از باکتری *باسیلوس متیلو فیکوس ال هفت*<sup>۱</sup>، میزان نیتروژن آمونیاکی را از مقدار ۱۴۰ میلی گرم بر لیتر تا حدود ۴۰ میلی گرم بر لیتر کاهش داده اند (۵). سابومون حذف بی‌هوازی آمونیاک در حضور مواد آلی را با استفاده از یک روش ابداعی مورد مطالعه قرار داد. مطالعات ناپیوسته انجام شده، نشان داده است که با روش هوازی می‌توان آمونیاک را در حضور مواد آلی به نیترات اکسید نمود. در این راستا اکسیژن مورد نیاز برای اکسیداسیون آمونیاک از طریق فعالیت آنزیمی کاتالاز تأمین شده است. با انجام این فرآیند در مرحله دوم، دنیتریفیکاسیون نیز سریع تر اتفاق می‌افتد. نتایج حاصل از این تحقیق که به صورت ناپیوسته انجام شده بود با آزمایشات مداوم نیز تأیید شده است (۶). گیو و همکاران عملکرد رآکتور ناپیوسته متوالی برای انجام هم زمان نیتریفیکاسیون و دنیتریفیکاسیون را در دمای ۵ تا ۳۰ درجه سانتی گراد مورد ارزیابی قرار داده اند و نقش دما و میزان هوادهی در انجام این فرآیند مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج حاصل از مطالعات آنان نشان داده است که این فرآیند بیولوژیکی می‌تواند با کنترل پارامترهای بهره برداری به خوبی در حذف آمونیاک و نیترات مورد استفاده قرار گیرد (۷). کلسکار و همکاران فرآیند نیتریفیکاسیون جزئی، آنوماکس و دنیتریفیکاسیون را برای تصفیه پساب خروجی از یک صنعت کودسازی مورد بررسی قرار داده اند. در این مطالعه از یک کنسرسیوم باکتریایی در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد استفاده شده بود که این فرآیند قادر به حذف حدود ۹۹ درصد آمونیاک از پساب خروجی بوده است (۸). با توجه به اهمیت استفاده از فرآیندهای بیولوژیکی در حذف آمونیاک و نیترات از پساب‌های صنعتی مورد نظر این تحقیق، استفاده از کنسرسیوم باکتری-های بومی جداسازی شده از پساب پتروشیمی کرمانشاه برای حذف بیولوژیکی نیتروژن آمونیاکی در دو مرحله بوده است.

فعالیت‌های صنعتی برخی از صنایع، تولید کننده‌ی مقادیر زیادی از ترکیبات آمونیاک می‌باشند، از جمله این صنایع می‌توان به صنایع پتروشیمی، صنایع شیمیایی، صنایع دارویی، صنایع تولید کننده کود، صنایع غذایی، صنایع کاغذ سازی و صنایع تولید کننده کاتالیست اشاره نمود (۱). روش‌های مختلفی جهت حذف آمونیاک از پساب صنایع وجود دارد، این روش‌ها شامل روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی می‌باشند. اما روش‌های بیولوژیکی در حذف آلاینده‌های صنعتی به عنوان روش‌های سازگار با محیط زیست و اقتصادی شناخته شده می‌باشند (۲). یکی از مهم‌ترین روش‌هایی که امروزه جهت حذف نیتروژن آمونیاکی از پساب صنایع مورد توجه قرار گرفته، استفاده از روش‌های بیولوژیکی با استفاده از فرآیندهای نیتریفیکاسیون و دنیتریفیکاسیون می‌باشد (۳). در این روش، ابتدا در مرحله اول نیتریفیکاسیون، اکسیداسیون آمونیاک به نیتريت با استفاده از باکتری های گونه *نیتروزوموناس*<sup>۱</sup> انجام می‌شود و در مرحله دوم، اکسیداسیون نیتريت به نیترات توسط گونه‌های *نیتروباکتر*<sup>۲</sup> صورت می‌گیرد. در فرآیند دنیتریفیکاسیون، نیترات تولید شده در شرایط آنوکسیک با استفاده از باکتری‌های دنیتریفایر به نیتروژن تبدیل و حذف می‌شود (۳).

برخی از مطالعاتی که در چند سال اخیر انجام شده، نشان داده است که استفاده از باکتری‌های بومی جداسازی شده از محیط، قادر به حذف غلظت‌های بالایی از نیترات و آمونیاک از پساب خروجی می‌باشد. رضایی و همکاران جداسازی یک باکتری نیتریفایر جدید با قابلیت حذف نیترات بالا را از پساب پتروشیمی انجام داده‌اند. در این تحقیق، ۶ گونه باکتری نیتریفایر از پساب پتروشیمی با استفاده از روش کشت، جداسازی و ایزوله شده است. در بین این باکتری‌ها، باکتری *سودوموناس/ستوتزری*<sup>۳</sup> با قابلیت حذف ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر نیترات با زمان ماند کمتر از ۲۴ ساعت، بهترین باکتری

1- Nitrosomonas

2- Nitrobacter

3- Pseudomonas Stotzeri

4- Bacillus methylophilus Strain L7

## ۲- مواد و روش ها

## ۲-۱- جداسازی کنسرسیوم باکتری‌های بومی نیتریفایر و

## دنیتریفایر از پساب پتروشیمی کرمانشاه

مواد و تجهیزات مورد نیاز در این تحقیق عبارتند از: (۱) محیط کشت اختصاصی باکتری‌های نیتریفایر (۹) شامل ۳/۴۱ میلی-گرم بر لیتر سولفات منیزیم هفت آبه، ۱۵/۱۴ میلی-گرم بر لیتر سودااش، ۵۰ میلی-گرم بر لیتر کلرید کلسیم دو آبه، ۵۰/۵ میلی-گرم بر لیتر سدیم هیدروژن فسفات، ۷۵/۶ میلی-گرم بر لیتر پتاسیم هیدروژن فسفات سه آبه، ۰/۵ میلی-گرم بر لیتر سولفات مس پنج آبه، ۰/۵ میلی-گرم بر لیتر کلرید آهن شش آبه و ۰/۵ میلی-گرم بر لیتر سولفات روی یک آبه (۲) محیط کشت باکتری‌های دنیتریفایر (۲ و ۱۰) شامل ۱۰ میلی-گرم بر لیتر دی سدیم ساکسینات شش آبه، ۱ میلی-گرم بر لیتر پتاسیم هیدروژن فسفات دو آبه، ۱ میلی-گرم بر لیتر نترات سدیم، ۰/۲ میلی-گرم بر لیتر کلرید پتاسیم، ۰/۲ میلی-گرم بر لیتر سولفات منیزیم هفت آبه و ۱ میلی-گرم بر لیتر سولفات آهن، (۳) مواد میکرونتزینت مورد استفاده جهت محیط کشت باکتری-های دنیتریفایر (۲ و ۱۰) شامل ۲/۲ میلی-گرم بر لیتر سولفات روی، ۵/۶ میلی-گرم بر لیتر کلرید کلسیم، ۵/۰۶ میلی-گرم بر لیتر کلرید منیزیم، ۱/۱ میلی-گرم بر لیتر هپتا مولبیدات آمونیوم<sup>۱</sup>، ۱/۵۱ میلی-گرم بر لیتر سولفات مس، ۱/۶۱ میلی-گرم بر لیتر کلرید کبالت و ۵ میلی-گرم بر لیتر اتیلن دی آمین تترا استیک اسید. از این محلول ساخته شده ۴ سی سی به محیط کشت دنیتریفایر (یک لیتر) اضافه می شود، (۴) مواد شیمیایی دیگری شامل هیدروکسید سدیم، اسید هیدروکلریک، معرف نسلر، نمک راشل، نترات سدیم، کلرید آمونیوم و متانول. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده مربوط به شرکت مرک آلمان بوده که با درجه خلوص آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گرفته است، (۵) مهم ترین تجهیزات مورد استفاده شامل شیکر، آب مقطرگیری، اسپکتروفوتومتر<sup>۲</sup>، آون، اتوکلاو، انکوباتور، pH متر دیجیتالی، هود بیولوژیکی، DO متر دیجیتالی، ارلن مایر و دیش پلیت.

جهت جداسازی باکتری‌های بومی نیتریفایر و دنیتریفایر از پساب و لجن پتروشیمی کرمانشاه ۳ نمونه گرفته شد، سپس نمونه‌ها را با ظروف استریل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه انتقال و به محیط‌های کشت اختصاصی باکتری‌های نیتریفایر و دنیتریفایر تلقیح نموده و محیط‌های کشت تلقیح شده در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته گرما گذاری شدند. نمونه‌های رشد کرده به صورت سریال رقت‌های متوالی در محیط کشت آگار دار تلقیح گردیدند و مجدداً در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند تا کلنی‌های قابل رویت تشکیل شوند. کلنی‌های رشد کرده بعد از کشت مجدد جداسازی شده و جهت انجام مطالعات بعدی ذخیره گردیدند.

## ۲-۲- تهیه محلول ذخیره نیتروژن آمونیاکی و نیتراتی

برای تهیه ۱ لیتر محلول ذخیره آمونیاکی با استفاده از کلرید آمونیوم، مقدار ۳/۸۱۹ گرم کلرید آمونیوم (که در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد از قبل کاملاً خشک شده است) را در مقداری آب مقطر حل کرده، سپس با اضافه کردن آب مقطر حجم آن را به ۱ لیتر می‌رسانیم. جرم مولی کلرید آمونیوم ۵۳/۴۲۹ گرم می‌باشد (۱۱). هر میلی‌لیتر از محلول تهیه شده دارای ۱ میلی-گرم نیتروژن آمونیاکی می‌باشد، بنابراین غلظت‌های مورد نیاز را می‌توان از محلول ذخیره ساخته شده تهیه نمود. برای تهیه ۱ لیتر محلول استاندارد نیتروژن نیتراتی با استفاده از نترات سدیم، مقدار ۱/۳۷۰۷ گرم نترات سدیم را که از قبل در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شده است، با دقت وزن نموده و پس از حل کردن در آب مقطر به حجم ۱ لیتر می‌رسانیم. این محلول دارای ۲۲۶ میلی‌گرم نیتروژن نیتراتی می‌باشد (۱۱).

## ۲-۳- ساخت پساب‌های سنتتیک

برای ساخت پساب با توجه به غلظت‌های مورد بررسی از محلول‌های ذخیره تهیه شده در مرحله قبل و با اضافه کردن اسید و یا قلیا برای تنظیم pH مورد نظر استفاده شده است و در نهایت محلول ذخیره باکتریایی تهیه شده برای تنظیم جمعیت باکتریایی با غلظت  $3 \times 10^8$  CFU/ml به کار گرفته

1- (NH4)6Mo7O24

2- USA-UV/Vis 2100 model

های ماند ۳ تا ۱۶۸ ساعت مورد بررسی قرار گرفته است. پساب سنتتیک طوری تهیه شده که مشابه پساب صنعت پتروشیمی در محدوده‌های غلظت مورد استفاده باشد. در این مطالعه غلظت اولیه باکتریایی و دما در همه آزمایشات ثابت و به ترتیب در محدوده  $3 \times 10^4$  CFU/ml و  $28 \pm 3$  °C (دمای محیط آزمایشگاه) بوده است. در فرآیندهای نیتروفیکاسیون، تامین اکسیژن به وسیله هوادهی با تأمین غلظت ۴-۳ میلی گرم بر لیتر و در فرآیندهای دنیتروفیکاسیون تأمین منبع کربن به وسیله اضافه کردن متانول در غلظت ۲ برابر غلظت نیتروژن محلول انجام شده است. در این مطالعه در مرحله اول اثر تغییرات pH برای غلظت‌های متفاوت آمونیاک در طی زمان تماس ۳ تا ۱۶۸ ساعت برای فرآیند نیتروفیکاسیون مورد بررسی قرار گرفته است. سپس تغییرات pH برای غلظت‌های متفاوت نترات در طی زمان تماس ۳ تا ۱۶۸ ساعت در دنیتروفیکاسیون ارزیابی می شود. با توجه به بهترین pH به دست آمده برای حذف آمونیاک و نترات، در مرحله بعد با pH ثابت (بهینه) اثر غلظت اولیه آمونیاک و نترات در توانایی باکتری‌های نیتریفایر و دنیتریفایر (با غلظت اولیه  $3 \times 10^4$  CFU/ml و دمای ثابت) در نیتروفیکاسیون و دنیتروفیکاسیون به صورت میزان کاهش مقدار آلاینده‌های فوق و راندمان عملکرد مورد ارزیابی قرار گرفته است.

### ۳- نتایج

#### ۳-۱- جداسازی کنسرسیون باکتری های نیتریفایر و

##### دنیتریفایر بومی

در شکل (۱) کلنی‌های رشد کرده از کنسرسیون باکتری‌های نیتریفایر و دنیتریفایر بر روی محیط کشت آگار دار نشان داده شده است. این شکل نشان می‌دهد که باکتری‌های بومی به خوبی بر روی محیط کشت رشد کرده اند. در این مرحله، از باکتری‌های رشد کرده برداشت نموده و پس از تلقیح در محیط کشت مایع به مدت ۷ روز در دمای ۲۷ درجه سانتی گراد گرماگذاری شده و سپس در دمای ۴ درجه سانتی گراد برای بخش‌های مختلف مطالعه نگه داری شده است.

شده است. برای تهیه محلول ذخیره باکتریایی، کلنی‌های رشد کرده بر روی محیط‌های کشت اختصاصی نیتریفایر و دنیتریفایر را در حالت استریل برداشت کرده و هر کدام از آن‌ها را در محیط‌های کشت اختصاصی مایع (حجم هر کدام ۴۰۰ سی سی تلقیح نموده و آن‌ها را در انکوباتور در دمای ۲۷ درجه سانتی گراد انکوبه نموده تا کدورتی معادل لوله مک فارلند ۱ (معادل  $3 \times 10^4$  CFU/ml) تشکیل گردد سپس این محلول برای ذخیره در دمای ۴ درجه سانتی گراد در یخچال نگه داری می شود.

#### ۲-۴- روش‌های اندازه گیری

برای اندازه گیری نترات از روش اسپکتروفتومتری UV با مشتق ثانویه در طیف جذب ۲۰۰ تا ۲۵۰ نانومتر و انتخاب بزرگترین مشتق ثانویه در طول موج ۲۲۰ تا ۲۳۰ نانومتر استفاده شده است. در این حالت خطای ناشی از وجود مواد آلی در نمونه‌های مورد آزمایش حذف شده است. برای اندازه گیری نیتريت از روش رنگ سنجی با استفاده از N-(1-ethylendiamine)-naphthyl استفاده شده است. برای اندازه گیری نترات و نیتريت نمونه‌ها قبل از آزمایش از فیلتر ۰/۴۵ میکرونی عبور داده شده است. برای اندازه گیری آمونیاک از روش اسپکتروفتومتری مادون قرمز استفاده شده است. برای اندازه گیری pH از دستگاه pH متر مدل ۸۲۶ متروم سوئیس استفاده شده است (۱۱). همه آزمایش‌ها سه بار تکرار شده اند و نتایج بیان شده برای میانگین سه بار آزمایش می‌باشد.

#### ۲-۵- روش انجام آزمایشات

انجام فرآیندهای نیتروفیکاسیون و دنیتروفیکاسیون به صورت ناپیوسته و در ارلن مایرهای ۲۰۰ میلی لیتری که هر ظرف حاوی ۱۰۰ میلی لیتر نمونه بوده، بر روی شیکر انجام شده است. در این مطالعه برای بررسی متغیرهای موثر در نیتروفیکاسیون و دنیتروفیکاسیون نظیر pH، غلظت‌های اولیه آمونیاک و نترات و زمان تماس از پساب‌های سنتتیک استفاده شده است که بدین منظور اثرات pH در محدوده های pH ۹- و ۵ و غلظت اولیه ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر در زمان-



شکل ۱- پلیت حاوی کلنی های رشد کرده از کنسرسیوم باکتری های الف) نیتریفایر ب) دنیتریفایر  
 Figure 1. Plates containing grown clones of nitrifying (right) and Denitrifying(Left) bacteria consortum

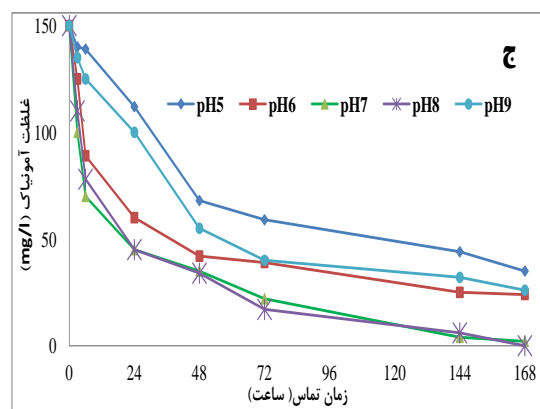
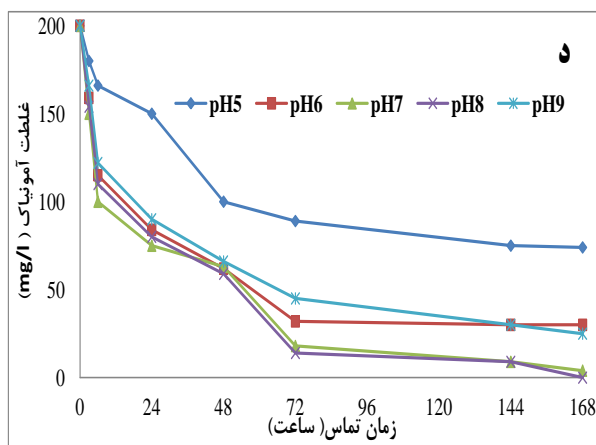
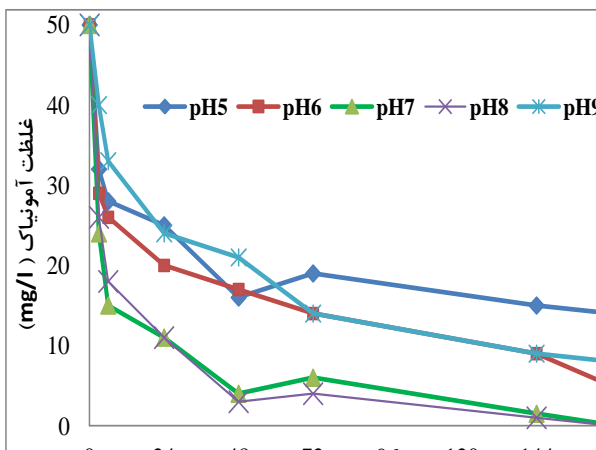
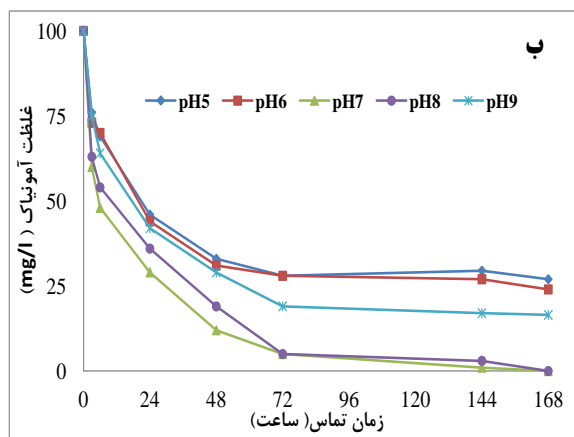
۳-۲- بررسی اثر pH بر میزان کاهش آمونیاک و نیترات

۳-۲-۱- اثر pH بر میزان کاهش آمونیاک

قرار گرفت که نتایج حاصل از این مطالعه در نمودار ۱ (الف، ب،

ج و د) نشان داده شده است.

در این تحقیق اثر pH های ۵، ۶، ۷، ۸ و ۹ با غلظت های آمونیوم ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر مورد مطالعه



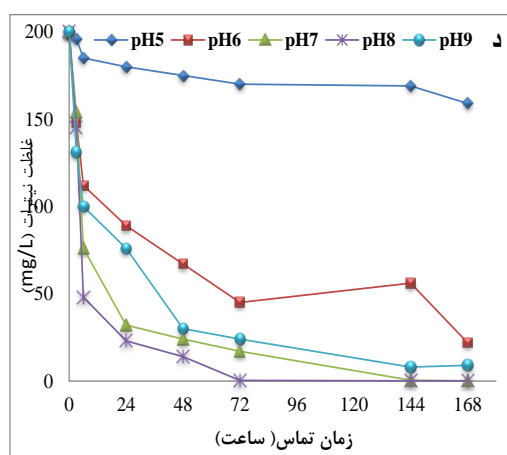
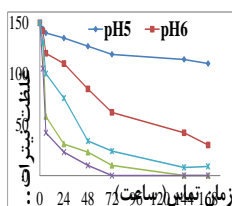
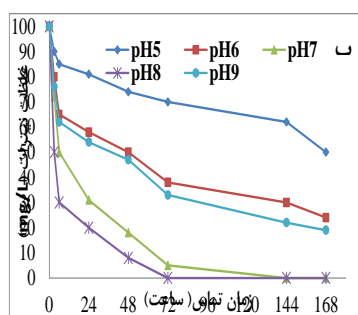
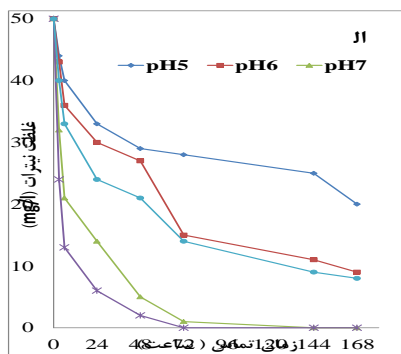
نمودار ۱- اثر pH بر کاهش بیولوژیکی آمونیاک (زمان ماند ۳-۱۶۸ ساعت، با استفاده از کنسرسیوم باکتری های نیتریفایر بومی با غلظت  $3 \times 10^8$  CFU/ml برای غلظت های اولیه آمونیاک الف) ۵۰ ب) ۱۰۰ ج) ۱۵۰ و د) ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر آمونیاک- نیتروژن

Figure 1. The effect of pH on ammonia biological removal ( retention time of 3-168 h, using of native nitrifying bacteria consortum with  $3 \times 10^8$  CFU/ml for ammonia initial concentrations (a)50 (b)100 (c)150 , (d)200 mg/l  $NH_4^{+}-N$

## ۳-۲-۲- اثر pH بر میزان کاهش نیترات

اثر pH های ۵، ۶، ۷، ۸ و ۹ با غلظت های نیترات ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر مورد مطالعه قرار گرفت. که نتایج حاصل از این مطالعه در نمودار ۲ (الف، ب، ج و د) نشان داده شده است.

نتایج حاصل از مطالعه در pH های مختلف و در دمای ثابت  $28 \pm 3$  درجه سانتی گراد، در مدت ۷ روز نشان داده است که بیشترین میزان کاهش آمونیاک در pH های ۷ و ۸ انجام گرفته است. کمترین میزان کاهش مربوط به pH ۵ بوده است. لذا در این مطالعه pH ۸ به عنوان pH مناسب در نظر گرفته شده است.



نمودار ۲- اثر pH بر حذف بیولوژیکی نیترات (زمان ۳-۱۶۸ ساعت با استفاده از کنسرسیوم باکتری های دنیتریفایر با

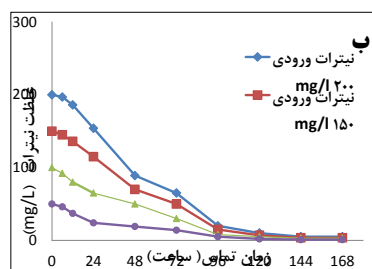
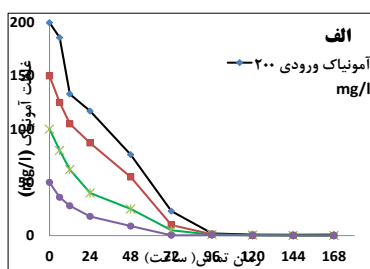
غلظت  $3 \times 10^8$  CFU/ml) برای غلظت های اولیه نیترات (الف) ۵۰ (ب) ۱۰۰ (ج) ۱۵۰ (د) و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر نیترات - نیتروژن

Figure 2. The effect of pH on nitrate biological removal (retention time of 3-168 h, using of denitrifying bacteria with  $3 \times 10^8$  CFU/ml) for nitrate initial concentrations (a) 50 (b) 100 (c) 150, (d) 200 mg/l  $\text{NO}_3^-$ -N

بسیار ناچیزی کاهش یافته است. لذا مناسبترین pH برای حذف نیترات ۷ و ۸ در نظر گرفته شده است که در حالت کلی در pH ۸، باکتری های دنیتریفایر بهترین عملکرد را دارا بوده است.

نتایج حاصل از مطالعه اثر pH های مختلف بر میزان کاهش نیترات نیز نشان داده است که در pH های ۷ و ۸ بیشترین میزان کاهش نیترات صورت گرفته است. در pH ۵ میزان حذف نیترات کم بوده خصوصاً زمانی که غلظت نیترات ورودی به ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر رسیده است که در این pH نیترات

می کند که در ظروف حاوی باکتری‌های نیتریفایر بعد از گذشت ۴ روز بیش از ۹۹/۵ درصد آمونیاک به نیترات تبدیل شده است، بدون این که تجمع نیتريت در محیط وجود داشته باشد. از طرفی در ظروف حاوی باکتری‌های دنیتريفاير، با گذشت ۶ روز، بیش از ۹۸ درصد نیترات حذف شده و اندازه-گیری‌ها نشان داده است که هیچ گونه تجمع نیتريت در محیط وجود ندارد.



نمودار ۳- میزان کاهش الف) آمونیاک ب) نیترات در بهره برداری ناپیوسته در غلظت های مختلف ورودی (دمای ۲۸ درجه سانتی گراد، pH اولیه ۸ و غلظت اولیه باکتریایی  $3 \times 10^8$  CFU/ml)

Figure 3. Reduction rate of ammonia( right) and nitrate( left) in batch process with inlet different concentrations (28 °C , initial pH 8 and bacteria initial concentrations with  $3 \times 10^8$  CFU/ml )

حذف شده بدون این که آلاینده دیگری در محیط وجود داشته باشد.

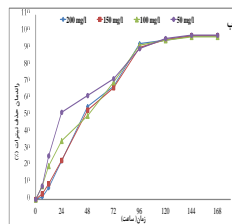
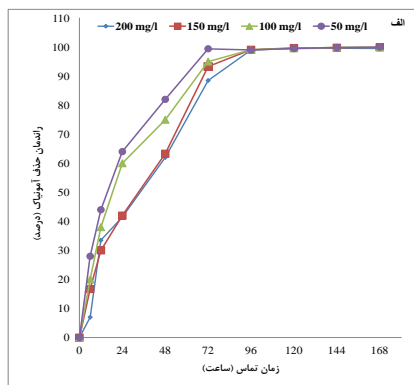
#### ۳-۴- محاسبه راندمان حذف آمونیاک و نیترات

نتایج این تحقیق در بهره برداری ناپیوسته در غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر آمونیاک ورودی و غلظت های پایین تر انجام شده به خوبی نشان داده است که در pH ۸ با گذشت زمان حدود ۹۶ ساعت میزان کاهش آمونیاک و نیترات بسیار محسوس بوده و تا حد قابل قبولی کاهش یافته است. در نمودار (۴) راندمان حذف آمونیاک و نیترات نشان داده شده است که برای دستیابی به حذف کامل آمونیاک و نیترات مدت زمان ۹۶ ساعت نیاز است تا با راندمان بالای ۹۹/۵ درصد حذف آمونیاک و نیترات انجام گیرد.

۳-۳- بررسی اثر غلظت اولیه در حذف آمونیاک و نیترات برای بررسی اثر غلظت اولیه آمونیاک و نیترات و توانایی کنسرسیوم باکتری‌های بومی جداسازی شده، میزان کاهش آمونیاک و نیترات در طی زمان‌های ماند ۱۶۸-۳ ساعت و با غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر آمونیاک و نیترات ورودی در حالت ناپیوسته در دمای  $28 \pm 3$  درجه سانتی گراد، pH ۸، با استفاده از منبع کربن خارجی متانول برای باکتری‌های دنیتريفاير اندازه گیری گردید. نتایج حاصل از این اندازه گیری در نمودار ۳(الف و ب) نشان داده شده است و بیان

مطالعه میزان حذف آمونیاک در حالت ناپیوسته به مدت ۷ روز نشان داده است که با گذشت ۳ روز از انجام فرآیند برای غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر، تبدیل کامل آمونیاک انجام شده است که برای ۳ غلظت دیگر کم تر می باشد. اما بعد از گذشت ۴ روز برای تمامی غلظت‌های ورودی تبدیل کامل صورت گرفته و بیش از ۹۹/۵ درصد آمونیاک به نیترات تبدیل شده است بدون این که هیچ گونه تجمع نیتريت در محیط وجود داشته باشد. از سویی با اندازه گیری میزان نیترات در ظرف حاوی باکتری‌های دنیتريفاير در طی ۷ روز نشان داده شده است که در روز اول فرآیند مقدار کمی از نیترات حذف شده ولی با گذشت ۴ روز از انجام فرآیند مشاهده شده که مقدار قابل توجهی از نیترات حذف شده و در روز ششم و هفتم بیش از ۹۹/۵ درصد نیترات





نمودار ۴- راندمان حذف الف) آمونیاک (ب) نیترات در بهره برداری ناپیوسته در فرآیندهای نیتریفیکاسیون و دنیتریفیکاسیون در غلظت‌های مختلف آمونیاک و نیترات ورودی (دمای ۲۸ درجه سانتی گراد، pH اولیه ۸، غلظت اولیه بکتریایی  $3 \times 10^8$  CFU/ml)

Figure 4. Removal efficiency ammonia(right) and nitrate( left) in batch process with nitrification and denitrification with inlet ammonia and nitrate different concentrations ( 28 °C , initial pH 8 and bacteria initial concentrations with  $3 \times 10^8$  CFU/ml )

#### بحث و نتیجه‌گیری

مورد استفاده قرار گرفته است (۲). فرآیند نیتریفیکاسیون نسبت به pH بسیار حساس بوده و در pH کم تر از ۶/۸ سرعت نیتریفیکاسیون به طور قابل ملاحظه ای کاهش می یابد. سرعت‌های بهینه نیتریفیکاسیون در pH حدود ۷-۷/۲ انجام می‌شود (۳). در برخی مطالعات مقدار بهینه pH برای فرآیند نیتریفیکاسیون ۸/۵- ۷/۵ ذکر شده است (۱۱).

تران و همکاران برای حذف آمونیوم موجود در یکی از صنایع داروسازی ژاپن از محیط کشت اختصاصی برای جداسازی باکتری‌های نیتریفایر استفاده نموده‌اند که با توجه به نتایج به دست آمده در تحقیق نشان داده‌اند که ترکیبات معدنی مورد استفاده جهت تهیه محیط های کشت باکتری‌های نیتریفایر مناسب بوده است و کنسرسیوم باکتری‌های جداسازی شده توانایی بالایی جهت حذف آلاینده را داشته است (۹). علت بالا بودن راندمان نیز بومی بودن باکتری ها بوده است که با شرایط موجود سازگار شده‌اند که با تحقیق انجام شده مشابهت دارد. گودینی و همکاران نیز از محیط کشت اختصاصی مشابه در این تحقیق با اندکی تغییرات، جهت کشت و جداسازی کنسرسیوم

با توجه به نتایج مطالعه ناپیوسته، (۱) مناسب ترین pH برای حذف بیولوژیکی نیتروژن آمونیاکی pH ۸ بوده است، (۲) زمان ماند مناسب برای حذف بیولوژیکی آمونیاک و نیترات ۴ روز می‌باشد، (۳) با استفاده از کنسرسیوم باکتری های نیتریفایر و دنیتریفایر که از پساب بومی جداسازی شده است، می‌توان میزان بیش تری از آلاینده موجود را حذف نمود، زیرا این میکروارگانیسم‌ها بیش تر با شرایط موجود سازگار شده اند و سمیت این آلاینده‌ها برای آن ها کم تر می‌باشد، لذا راندمان حذف ۹۹/۵ درصد حاصل شده است.

کاررا و همکاران نیز جهت حذف بیولوژیکی نیتروژن از pH هایی مشابه با این تحقیق استفاده نموده‌اند. بدین منظور از pH ۸/۵-۷/۵ برای فرآیند نیتریفیکاسیون استفاده شده که مناسب ترین pH حدود ۷/۵ بوده است. در pH های بالاتر تعادل آمونیوم-آمونیاک به سمت آمونیاک پیش می‌رود که آمونیاک آزاد به عنوان یک بازدارنده<sup>۱</sup> فرآیند محسوب می‌شود. هم چنین برای انجام فرآیند دنیتریفیکاسیون pH برابر ۷/۵

1- Inhibitor

جهت فرآیندهای مورد نظر دارند، مورد استفاده قرار می گیرند و نتایج حاصله با این تحقیق مقایسه می گردد. از طرفی با توجه به این که انجام فرآیندهای بیولوژیکی راندمان بالایی داشته و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه هستند، لذا انجام مطالعات پایلوت و میدانی این تحقیق در فاضلاب‌های صنعتی مختلف مورد مطالعه و بررسی قرار می گیرد.

استفاده از کنسرسیوم باکتری‌های بومی نیتریفایر و دنیتریفایر در صنایع که به نحوی با ترکیبات نیتروژنی سروکار دارند، از جمله در صنایع شیمیایی، پتروشیمی و صنایع تولید کننده کاتالیست مورد استفاده قرار می گیرد. با توجه به این که این مطالعه در حالت ناپیوسته انجام شده است و میزان قابل توجهی از آمونیاک و نیترات حذف شده است، لذا پیشنهاد می‌شود شرایط عملیاتی این مطالعه نظیر دما، pH و زمان ماند در مطالعات پیوسته نیز مد نظر قرار گیرد تا شاید بتوان غلظت های بالاتری از آمونیاک و نیترات را حذف نمود و در نهایت برآورد اقتصادی این طرح در مقیاس صنعتی و اجرای آن در صنایع به منظور جلوگیری از آلودگی‌های محیط زیست توصیه می‌شود.

#### منابع

1. Velasco, T., Dela, A., Beristain-Cardoso, R., Damian-Matsumura, P., Gomez, J. 2013. Sequential nitrification-denitrification process for nitrogenous, sulfurous and phenolic compounds removal in the same bioreactor. *Bioresource Technology*, 139: 220-225.
2. Carrera, J., Baeza, J.A., Vicent, T., Lafuente, J. 2003. Biological nitrogen removal of high strength ammonium industrial wastewater with two-sludge system. *Water Research*, 37: 4211-4221.
3. Tchobanoglous, G., Stensel, H.D., Tsuchihashi, R., Burton, F. 2013. *Wastewater Engineering: Treatment*

باکتری‌های دنیتریفایر به منظور حذف نیترات از آب استفاده نموده اند که با توجه به مناسب بودن محیط کشت اختصاصی، میزان حذف نیترات در حد قابل قبولی بوده است و راندمان بالای ۹۰ درصد حاصل شده است (۱۲). ژنگ و همکاران شرایط عملیاتی روی حذف نیتروژن و  $N_2O$  در فرآیند هم زمان نیتریفیکاسیون و دنیتریفیکاسیون را مورد ارزیابی قرار دادند. در این تحقیق دمای عملیاتی  $28 \pm 3$  درجه سانتی گراد و  $pH 7.5 \pm 0.2$  بوده است که این شرایط به عنوان شرایط بهینه مد نظر قرار گرفته و از نظر عملیاتی شبیه به این تحقیق می‌باشد (۱۳). در تحقیق انجام شده توسط رویز نیز نشان داده شده است که در  $pH 6.45-8.95$  نیتریفیکاسیون کامل انجام می گیرد. در این گستره pH انباشتگی نیتريت وجود نداشته و زمانی که pH به کم تر از  $6.45$  و یا بیش تر از  $8.95$  می‌رسد بازدارندگی نیتریفیکاسیون اتفاق می‌افتد (۱۴).

در ارتباط با اثرات تغییرات غلظت آمونیاک و نیترات، نتایج حاصل نشان داده است که با در نظر گرفتن شرایط موجود باکتری‌های نیتریفایر و دنیتریفایر قادر بوده‌اند کاهش اساسی در غلظت های ورودی انجام داده و حتی راندمان‌هایی در حدود ۹۵ درصد و بالاتر را برای حذف آمونیاک و نیترات فراهم نمایند. با توجه به نتایج حاصله با استفاده از این روش تصفیه برای غلظت هایی تا ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر آمونیاک و نیترات می‌توان پسابی را تولید نمود که دارای استانداردهای خروجی برای تخلیه به منابع آب های سطحی و محیط می‌باشد (۱۵).

دوری و همکاران نیز در یک مطالعه که برای فاضلاب صنعتی با غلظت بالای آمونیاک با استفاده از فرآیند ناپیوسته متوالی انجام داده اند، نشان داده اند که با باکتری های جداسازی شده از محیط توانایی بالایی برای حذف غلظت‌هایی تا ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر آمونیاک با استفاده از یک گروه از باکتری‌های آنوماکس به دست آمده است (۱۶).

در این تحقیق، با توجه به این که از کنسرسیوم باکتری‌های نیتریفایر و دنیتریفایر بومی استفاده شده و جداسازی خالص گونه‌های خاصی از باکتری ها انجام نشده است، لذا در صورتی که ایزوله سازی گونه های خالص باکتری ها انجام گردد، باکتری های نیتریفایر و دنیتریفایری که توانایی بیش تری

10. Kesseru, P., Kiss, I., Bihari, Z., Polyak, B. 2003. Biological denitrification in a continuous-flow pilot bioreactor containing immobilized *Pseudomonas butanovora* cells. *Bioresource Technology*, 87: 75-80.
11. APHA, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 2005. 21th ed, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC, USA.
12. Godini, H., Rezaee, A., Beyranvand, F., Jahanbani, N. 2012. Nitrate removal from water using denitrifier-bacteria immobilized on activated carbon at fluidized-bed reactor. *Yafteh*, 14:15-27.
13. Zhang, F., Li, P., Chen, M., Wu, J., Zhu, N., Wu, P., Chiang, Hu, P. 2015. Effect of operational modes on nitrogen removal and nitrous oxide emission in the process of simultaneous nitrification and denitrification. *Chemical Engineering Journal*, 280: 549-557.
14. Ruiz, G., Jeison, D., Chamy, R. 2003. Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration. *Water Research*, 37: 1371-1377.
15. U.S. Environmental Protection Agency. 2009. National Water quality Inventory: 2004 Report to Congress; EPA-841/R-08-001U.S. Environmental Protection Agency; Washington, D.C.
16. Daverey, A., Su, S.H., Huang U.T., Lin, G.W. 2012. Nitrogen removal from opto-electronic wastewater using and Resource Recovery. Inc. Metcalf and Eddy, McGraw-Hill, Inc., 5th Ed., . New York.
4. Rezaee, A., Godini, H., Dehestani, S., Kkaviani, S. 2010. Isolation and characterization of a novel denitrifying bacterium with high nitrate removal: PSEUDOMONAS STUTZERI". *Iranian journal of Environmental Health and Science Engineering*, 7: 313-318.
5. Zhang, Q.L., Lio, Y. , Guo, A. , Miao, L. , Zheng, H.y. , Liuthe Z.P. 2012. Characteristics of a novel heterotrophic nitrification bacterium, *Bacillus methylo trophics* strain L7. *Bioresource technology*, 108: 35-44.
6. Sabumon, P.C. 2007. Anaerobic ammonia removal in presence of organic matter: A novel route. *Journal of Hazardous Materials*, 149: 49-59.
7. Guo, J., Zhang, L., Chen, W., Ma, F., Liu, H., Tian, Y. 2013. The regulation and control strategies of a sequencing batch reactor for simultaneous nitrification and denitrification at different temperatures. *Bioresource Technology*, 133: 59-67.
8. Keluskar, R., Nerurkar, A., Desai A. 2013. Development of a simultaneous partial nitrification, anaerobic ammonia oxidation and denitrification (SNAD) bench scale process for removal of ammonia from effluent of a fertilizer industry. *Bioresource Technology*, 130: 390-397.
9. Tran, N. H, Uruse, T., Kusakabe, O. 2009. The characteristics of enriched nitrifier culture in the degradation of selected pharmaceutically active compounds. *Journal of Hazardous Materials*, 171: 1051-1057.

sequencing batch reactor. *Bioresource Technology*, 113:225–231.

the simultaneous partial nitrification, anaerobic ammonium oxidation and denitrification (SNAD) process in