تأثیر بازدارندگی فنل در حذف آمونیاک با فرآیند نیتریفیکاسیون از پساب آلوده به فنل و آمونیاک بالای بخش کک‌سازی کارخانه ذوب آهن اصفهان

حسین قنواتی [۱] گیتی امتیازی [۲]

(دریافت ۸۵/۶/۱ پذیرش ۸۵/۱۲/۳)

چکیده

در این تحقیق از فرآیند نیتریفیکاسیون و باکتری‌های اتوتروف غنی شده به منظور حذف آمونیاک از پسابهای صنعتی آلوده به فنل استفاده گردید. این بررسی بر روی پساب ورودی و خروجی بخش کک‌سازی کارخانه ذوب آهن اصفهان صورت گرفت. پساب ورودی حاوی ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک و ۲۵۳۰ میلی‌گرم بر لیتر فنل و پساب خروجی حاوی ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک و ۵۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فنل بود. از محیط‌های مصنوعی نیز به منظور مقایسه میزان حذف آمونیاک در محیط مصنوعی با پساب استفاده شد. در محیط‌های مصنوعی با درصد آمونیاک مشابه پساب و فاقد فنل، حذف در مدت ۸ روز صورت پذیرفت. حذف آمونیاک از پساب خروجی به علت کاهش فنل نسبت به پساب ورودی کارآیی بالاتری داشت. در کل بهترین نتیجه مربوط به تیمار پساب خروجی به همراه اتوتروف‌های نیتریفیکاتور و با اثردهی کربنات سدیم بود که حذف کامل آمونیاک در مدت زمان ۱۴ روز انجام شد. از روش MPN نیز به منظور مقایسه تعداد باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک استفاده گردید و کشت غنی شده با حضور $۴/۶\times۱۰^{۳}$ سلول در هر میلی لیتر بیشترین تعداد باکتری را شامل بود. نتایج حاصله، نشان دهنده اثر بازدارندگی فنل در فرآیند نیتریفیکاسیون است و روشهای به کار گرفته شده راهکار بسیار مناسبی برای حذف آمونیاک از پسابهای آلوده به درصدهای بالای فنل می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: نیتریفیکاسیون، باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک، حذف آمونیاک، تأثیر بازدارندگی فنل، پساب کک سازی.

Inhibitory Effect of Phenol on Ammonia Removal by Nitrification of High Ammonia and Phenol Contaminated Coke Wastewater from Isfahan Steel Company (ISCO)

Hossein Ghanavati [1] *Giti Emtiazi [2]*

(Received Aug. 23, 2006 Accepted Feb. 22, 2007)

Abstract

In this study, the nitrification process using enriched ammonia oxidizing bacteria was used for ammonium removal from coke wastewater of Isfahan Steel Company (ISCO). Influent and effluent samples containing ~600 mg l^{-1} ammonium and 2530-550 mg l^{-1} phenol were collected. For comparative assessment, ammonia removal was performed on artificial media in which removal of ammonium took a shorter time (8 days) than in the real wastewater. Ammonium removal efficiency from the effluent was higher than that from the influent due to the reduced phenol content in the former. The best result occurred in the treatment composed of effluent, enriched nitrifiers, and

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی دانشگاه اصفهان، ghanavati@yahoo.com
۲- استاد بخش میکروبیولوژی دانشگاه اصفهان

1-Researcher of Microbiology, Isfahan University, ghanavati@yahoo.com
2-Professor of Microbiology, Isfahan University

Archive of SID
www.SID.ir

bicarbonate for which a record ammonium removal of 14 days was observed. MPN method was used to count and compare colonies of nitrifying bacteria in the samples. The enriched nitrifier sample containing 4.6×10^3 cell ml^{-1} was the best. The results show that phenol has inhibitory effects on nitrification. Carbonate ions and enriched nitrifying bacteria have positive effects on ammonium removal in all samples.

Keywords: Nitrification, Ammonia Oxidizing Bacteria, Ammonium Removal, Inhibitory Effect of Phenol, Coke Wastewater.

۱- مقدمه

نیتریفیکاسیون از فرآیندهای مهم در حذف آمونیاک بالاخص آمونیاک موجود در پسابهای صنعتی می‌باشد [۱]. یکی از مشکلات پسابهای صنعتی حضور مقادیر بالای آمونیاک و فنل می‌باشد. پسابهای آلوده به درصدهای بالای فنل، اثر بازدارندگی فراوانی بر روی نیتریفیکاسیون دارند [۲و۳]. باید دانست پساب کارخانه‌های تولید آهن حاوی کک فراوان است و میزان حضور فنل در پسابهای کک‌سازی وابسته به نوع کک مصرفی و نیز فرآیند تهیه کک است. ترکیبات پساب کک سازی شامل مقادیر بالایی از آمونیاک، فنل و مقادیر کمی فسفر و فلزات سنگین می‌باشد. کارخانه ذوب آهن اصفهان یکی از بزرگ‌ترین کارخانه‌های ایران و یکی از پایه‌های اصلی صنعت ایران است. این کارخانه از بخشهای مختلفی تشکیل شده است که بسته به فرآیندی که در هر قسمت صورت می‌گیرد و نیز بسته به محصولاتی که در هر قسمت تولید می‌گردد پساب صنعتی با خصوصیات ویژه‌ای تولید می‌شود. برای حذف مواد سمی و آلاینده‌ها از هر یک از این پسابها، سیستم ویژه‌ای مورد نیاز است.

عمل نیتریفیکاسیون توسط باکتری‌های نیتریفیکاتور صورت می‌گیرد. این باکتری‌ها که از نوع شیمیولیتواتوتروف می‌باشند، جزء خانواده پروتئوباکترها، گرم منفی و هوازی هستند و دارای زمان تقسیم طولانی و حساس به نور و شرایط اسیدی می‌باشند [۴و۵]. استفاده از باکتری‌های نیتریفیکاتور غنی شده برای حذف آمونیاک از پسابهای صنعتی، در تحقیقات متعددی گزارش شده است [۶و۷]. ترکیبات فنل از جمله مهم‌ترین ترکیبات آلی هستند که بر روی نیتریفیکاسیون اثر بازدارندگی دارند [۳]. ترکیبات آلی مذکور نقشی عمده در ترکیبات اصلی پسابهای صنعتی دارند [۸و۹]. اثر بازدارندگی فنل به دلیل تأثیر بر روی آنزیم آمونیاک مونواکسیژناز، تغییر در غشاء و تأثیر بر پروتئین‌های متصل به لیپیدها در غشاء، تولید متابولیت‌های سمی و نیز دگرگونی متابولیت‌های درون سلولی می‌باشد [۱۰و۱۱]. pH پسابهای صنعتی معمولاً پایین است و باید متعادل و قلیایی شود تا فرآیند نیتریفیکاسیون صورت پذیرد [۱۲]، برای این منظور محققین متعددی از یون‌های کربنات استفاده می‌کنند [۱۲و۱۳]. این یون‌ها خاصیت بافری دارند و به باکتری‌های نیتریفیکاتور در مقابل شوک حاصل از کاهش pH، تجمع آمونیاک و تجمع نیتریت کمک می‌کنند و در واقع یک نوع ماده اشتهاآور و تحریک کننده فرآیند نیتریفیکاسیون محسوب می‌شوند [۱و۱۲].

هدف اصلی از این تحقیق پایین آوردن میزان آمونیاک پساب بخش کک سازی کارخانه ذوب آهن اصفهان با استفاده از باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک غنی شده بود.

۲- مواد و روشها

۲-۱- نمونه برداری پساب به منظور بررسی حذف آمونیاک

نمونه پساب به کار گرفته شده در این تحقیق، پساب بخش کک‌سازی ذوب‌آهن اصفهان بود. نمونه‌برداری از دو محل انجام شد؛ نخست در محل ورود پساب به سیستم حذف پساب در بخش کک‌سازی ذوب‌آهن اصفهان (پساب ورودی) که دارای آمونیاک ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و فنل ۲۵۳۰ میلی‌گرم بر لیتر بود و دیگری پساب خارج شونده از این قسمت (پساب خروجی) که دارای آمونیاک ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (برابر با پساب ورودی) بود و میزان فنل آن تا حد ۵۵۰ میلی‌گرم بر لیتر کاهش یافته بود.

۲-۲- محیط کشت اختصاصی باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک

محیط کشت اختصاصی استفاده شده برای باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک شامل مواد معدنی زیر در یک لیتر بود:

$(NH_4)_2SO_4$, 0.5 g; KH_2PO_4, 0.2g; $CaCl_2.2H_2O$, 0.02g; $MgSO_4.7H_2O$, 0.04g; FeNaEDTA, 3.8mg; phenol red, 0.1mg; $NaMoO_4.2H_2O$, 0.1mg; $MnCl_2$, 0.2mg; $CoCl_2.6H_2O$, 0.002mg; $ZnSO_4.7H_2O$, 0.1mg and $CuSO_4.5H_2O$, 0.02mg.

محیط بعد از آماده شدن در pH برابر با ۷/۵ تنظیم می‌گردد. استریلیزاسیون در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ آتمسفر در مدت زمان ۲۰ دقیقه صورت پذیرفت. بعد از اتوکلاو، کربنات سدیم ۰/۸۴ میلی مولار به صورت استریل به محیط کشت اضافه گردید [۱۴ و ۱۵].

Archive of SID

www.SID.ir

۲-۳- روش غنی‌سازی باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک با تهیه سریال رقت

عمل غنی‌سازی به روش تهیه سریال رقت به منظور کاهش هتروتروف‌ها در هر پاساژ و در حذف آنها می‌باشد. اساس این روش، رقیق‌سازی و پاساژ دادن نمونه‌ها می‌باشد. برای انجام غنی‌سازی ابتدا محیط کشت اختصاصی باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک را ساخته و از نمونه پساب که حاوی باکتری‌های نیتریفیکاتور بود، چند میلی لیتر به محیط کشت اختصاصی تلقیح کردیم و همچنین کربنات سدیم، به عنوان تنظیم کننده pH و منبع کربن و عامل تحریک رشد باکتری‌های اتوتروف به محیط اضافه شد. به دلیل حضور فنل قرمز در محیط کشت در اثر اضافه کردن کربنات سدیم رنگ محیط کشت صورتی می‌گردد که نشانه ایجاد شرایط pH مناسب برای رشد باکتری‌های نیتریفیکاتور می‌باشد. بعد از قرار گرفتن نمونه‌ها بر روی تکان‌دهنده[1] و در تاریکی و دمای ۲۸ درجه، تغییر رنگ صورتی به بی‌رنگ تا زرد نشانه رشد باکتری‌های نیتریفیکاتور و تولید نیتریت و کاهش pH می‌باشد و در این زمان باید مجدداً کربنات سدیم اضافه گردد تا رنگ صورتی در محیط کشت مشاهده شود. زمانی که میزان آمونیاک مصرفی ۱/۳ تا ۲/۳ کل آمونیاک محیط کشت باشد و یا میزان نیتریت تولید شده ۱/۳ تا ۲/۳ کل نیتریت تولیدی توسط اتوتروف‌های اکسید کننده آمونیاک شده باشد، زمان مناسب برای پاساژ دادن است که علت آن قرار گرفتن همیشگی اتوتروف‌های نیتریفیکاتور در فاز لگاریتمی رشد می‌باشد. اگر باکتری‌های اتوتروف در فاز سکون[2] وارد شوند هتروتروف‌ها فرصت رشد پیدا خواهند کرد و غنی‌سازی به درستی انجام نخواهد گرفت [۱۴و۱۵].

۲-۴- اندازه‌گیری آمونیاک و نیتریت

از معرف نسلر برای اندازه‌گیری آمونیاک استفاده شد. این معرف در حضور آمونیاک از خود رنگ زرد نشان می‌دهد که میزان جذب این رنگ در دستگاه اسپکتوفتومتر برابر ۴۱۰ نانومتر بود. با قراردادن عدد OD در رابطه مربوط به منحنی استاندارد مقدار آمونیاک نمونه مجهول به دست آورده می‌شود [۱۶].

اندازه‌گیری نیتریت با معرفهای آلفا نفتیل آمین و اسید سولفانیلیک انجام گرفت. این معرفها در حضور نیتریت از خود رنگ قرمز نشان می‌دهند. میزان جذب این رنگ در دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۴۳ نانومتر تعیین شد. با قراردادن عدد OD به دست آمده در رابطه مربوط به منحنی استاندارد مقدار نیتریت نمونه مجهول به دست می‌آید [۱۶].

۲-۵- اندازه گیری فنل

معرف گیبس (۲و۴ دی کلروکوئینون-۴-کلرامید) برای اندازه‌گیری فنل مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری میزان فنل نمونه مورد نظر، به ۱۵۰ میلی‌لیتر از نمونه سانتریفوژ شده (در دور rpm ۶۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه) میزان ۳۰ میلی‌لیتر Na_2HCO_3 و ۲۰ میلی‌لیتر از معرف گیبس اضافه شد و عدد OD در طول موج ۶۳۰ نانومتر در دستگاه اسپکتوفتومتر به دست آمد و در رابطه مربوط به منحنی استاندارد قرار گرفت تا مقدار فنل نمونه مجهول به دست آید [۱۷].

۲-۶- روش بررسی حذف آمونیاک از پساب توسط اتوتروف‌های غنی شده

در این روش از باکتری‌های اتوتروف نیتریفیکاتور غنی‌شده استفاده گردید. بررسی میزان حذف آمونیاک، در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری صورت گرفت. ۵ میلی‌لیتر از نمونه غنی‌شده اتوتروفی به ۶۵ میلی‌لیتر پساب (پساب ورودی و یا خروجی بر اساس نوع پساب مورد بررسی) اضافه گردید. کربنات سدیم از محلول ۰/۸۴ میلی‌مولار به ارلن‌هایی که در آنها اثر کربنات سدیم در حذف آمونیاک مورد بررسی قرار گرفته بود، اضافه شد. برای ساخت نمونه شاهد، ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به ۶۵ میلی‌لیتر پساب اضافه شد. مقدار اولیه آمونیاک و نیتریت در ارلن‌ها اندازه‌گیری شد. اضافه نمودن مجدد کربنات سدیم زمانی صورت گرفت که pH محیط بر اثر رشد و فعالیت باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک و تولید نیتریت کاهش یافته بود. افزایش میزان نیتریت و کاهش میزان آمونیاک اندیکاتور برای اضافه کردن کربنات سدیم می‌باشد. مقدار آمونیاک و نیتریت نمونه‌ها در فواصل زمانی ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد.

۲-۷- روش بررسی حذف آمونیاک از محیط مصنوعی توسط اتوتروف‌ها

میزان آمونیاک محیطهای مصنوعی معادل با نمونه پساب مورد بررسی یعنی ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد. آمونیاک به شکل سولفات آمونیوم به محیط‌های کشت افزوده شد و pH آن برابر ۷/۵ تنظیم گردید. محیط پایه استفاده شده محیط اختصاصی باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک بود. در ادامه ۶۵ میلی‌لیتر از محیط مصنوعی، در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری قرار داده شد و بعد از استریل کردن آن، به مقدار ۵ میلی‌لیتر اتوتروف غنی شده به هر ارلن اضافه گردید، سپس کربنات سدیم از محلول ۰/۸۴ میلی‌مولار

[1] Shaker
[2] Stationary Phase

Archive of SID
www.SID.ir

به هر ارلن افزوده شد. شیوه انجام آزمایش‌ها و زمان اندازه‌گیری همانند روش حذف آمونیاک توسط اتوتروف‌های غنی شده از پساب می‌باشد.

۲-۸- روش MPN برای شمارش باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک

اساس این روش همان مراحل اصلی MPN است و اندیکاتور در این روش تغییر رنگ صورتی محیط به بی‌رنگ می‌باشد [۱۸و ۱۹]. برای این منظور لوله‌ها در انکوباتور ۲۸ درجه سانتی‌گراد بدون تکان دادن[1] و در تاریکی انکوبه شد. مدت انکوباتورگذاری هشت هفته بود. بعد از این مدت نمونه‌هایی که رنگ آنها از صورتی به بی‌رنگ تغییر کرده بود به عنوان نمونه‌های مثبت در نظر گرفته شدند. تعداد نمونه‌های مثبت در هر رقت شمارش شد و از روی جدول استاندارد MPN تعداد باکتری‌های نیتریفیکاتور تعیین گردید [۲۰]. در این روش از نمونه پساب ورودی و خروجی بخش کک‌سازی ذوب آهن و همچنین کشت غنی شده باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک به منظور مقایسه تعداد باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- اندازه‌گیری میزان فنل پسابهای مورد بررسی

میزان فنل پسابهای ورودی و خروجی با معرف گیبس اندازه‌گیری شد. میزان فنل پساب ورودی مورد بررسی ۲۵۳۰ میلی‌گرم بر لیتر و میزان فنل پساب خروجی مورد بررسی ۵۵۰ میلی گرم بر لیتر اندازه‌گیری گردید.

۳-۲- خصوصیات باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک غنی شده

در جدول ۱، خصوصیات باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک جدا شده نشان داده شده است که با خصوصیات بیان شده در کتاب برگی[2] مطابقت دارد [۲۱]. نتایج ذکر شده در جدول ۱ تأیید کننده قرارگیری باکتری‌های جداسازی شده در گروه باکتری‌های اتوتروف اکسید کننده آمونیاک می‌باشد.

۳-۳- حذف آمونیاک از پساب ورودی

این نتایج از تأثیر باکتری‌های اتوتروف غنی‌شده بر روی پساب ورودی به دست آمده است. تیمارهای مختلف انجام شده در قسمت راهنمای شکل ۱ نشان داده شده است.

تفسیر نمودار شکل ۱ به شرح زیر می‌باشد:

در نمونه شاهد حذفی صورت نگرفت. باکتری‌های اتوتروف غنی‌شده، به تنهایی بر روی میزان حذف آمونیاک موجود در پساب مؤثر نمی‌باشند و مقدار آمونیاک حذف شده در مدت زمان ۱۸ روز ۹۶ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک (۱۶/۲۴درصد) می‌باشد. در نمونه پساب به همراه کربنات سدیم میزان حذف ۱۷۵ میلی‌گرم بر لیتر، طی ۱۸ روز می‌باشد که معادل با ۱۳۶ میلی‌گرم نیتروژن بر لیتر (۳۰/۸ درصد) است. در نمونه پساب به همراه باکتری‌های اتوتروف غنی شده و کربنات سدیم میزان حذف ۵۵۸ میلی‌گرم بر لیتر (۱۰۰درصد)، طی ۱۸ روز می‌باشد.

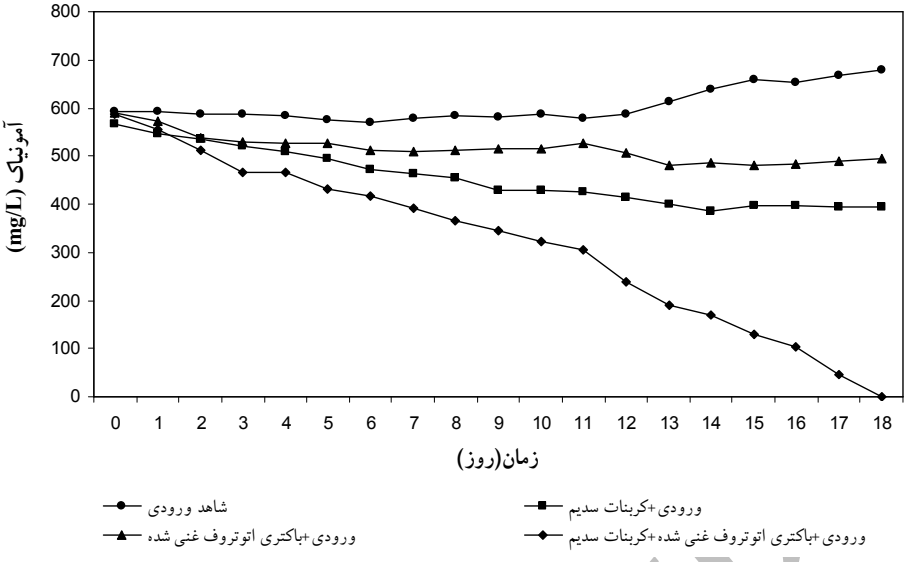
کامپُس[3] و همکاران در سال ۱۹۹۹ از فرآیند نیتریفیکاسیون به منظور حذف آمونیاک از پساب استفاده کردند که میزان حذف آمونیاک بین ۹۷ تا ۹۹ درصد بود [۱]. رویز[4] و همکاران در سال ۲۰۰۳ از فرآیند نیتریفیکاسیون جزئی و تجمع نیترات به منظور حذف آمونیاک از پساب با ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک استفاده نمودند که حذف آمونیاک به طور کامل صورت گرفت [۲۲]. یاماگیشی[5] و همکاران در سال ۲۰۰۱ حذف همزمان فنل و آمونیاک را از پساب توسط فرآیند نیتریفیکاسیون با استفاده از لجن فعال به صورت تک مرحله‌ای انجام دادند و حذف آمونیاک به طور کامل در مدت زمان ۱۸ روز انجام گرفت [۹]. در این تحقیق میزان حذف آمونیاک پساب کک‌سازی با استفاده از فرآیند نیتریفیکاسیون در بعضی تیمارها به میزان ۱۰۰ درصد بود.

[1] Shake
[2] Bergy
[3] Campos
[4] Ruiz
[5] Yamagishi

جدول ۱- خصوصیات باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک

تست گرم	منفی
شکل	کروی تا بیضی
رشد روی محیط کشت اختصاصی حاوی آمونیاک	مثبت
رشد در حضور مواد آلی(محیط نوترینت آگار)	منفی
رشد در محیط حاوی مواد معدنی بدون آمونیاک	منفی
نوع تغذیه	شیمیولیتواتوتروف
تغییرات pH	کاهش pH محیط کشت در اثر فعالیت باکتری
تولید نیتریت	مثبت
حذف آمونیاک	مثبت

Archive of SID
www.SID.ir

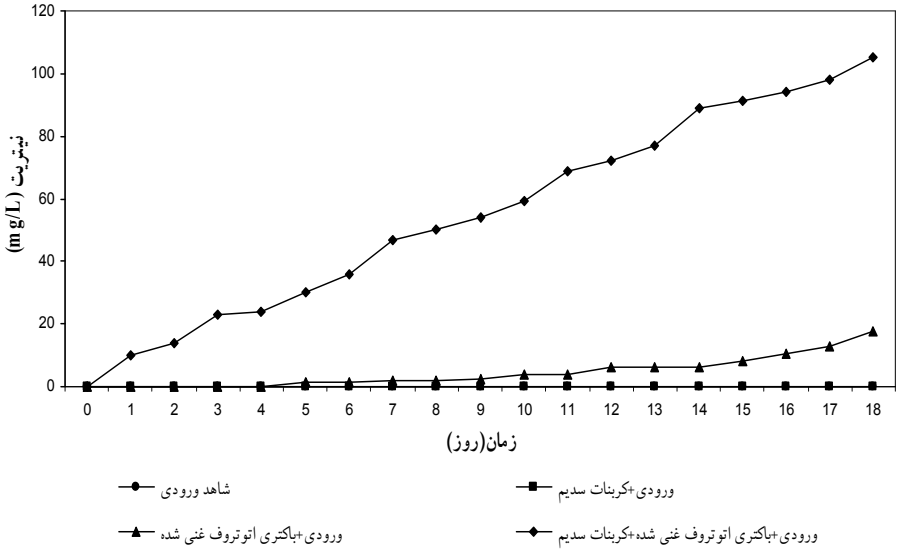


شکل۱- حذف آمونیاک از پساب ورودی

۳-۴- تولید نیتریت در پساب ورودی

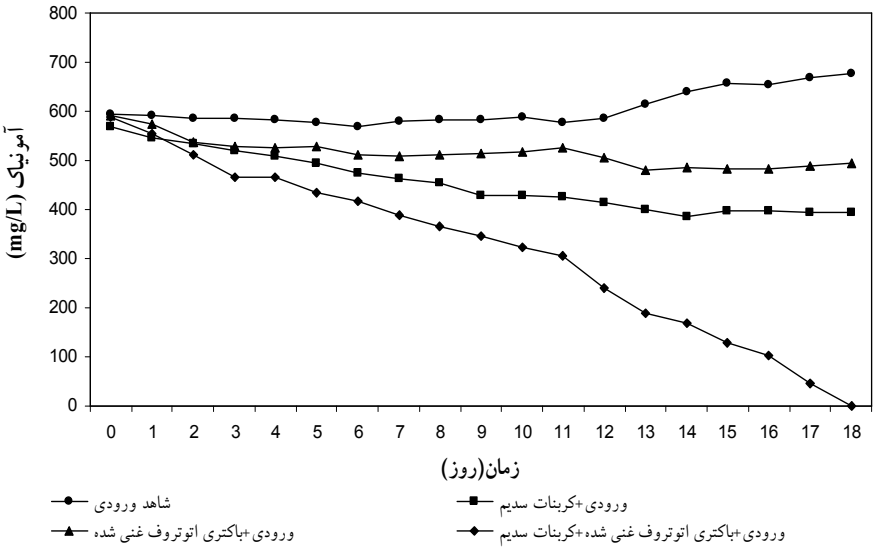
این نتایج از تأثیر باکتری‌های اتوتروف غنی‌شده بر روی پساب ورودی به دست آمده است. تیمارهای مختلف انجام شده در قسمت راهنمای شکل ۲ نشان داده شده است.

همان طور که در شکل مشخص است در نمونه پساب حاوی باکتری‌های اتوتروف غنی‌شده همراه با کربنات سدیم نیز نیتریت به میزان ۱۰۵ میلی گرم بر لیتر طی ۱۸ روز تولید شد. نمونه پساب حاوی باکتری‌های اتوتروف غنی‌شده نیز به میزان ۱۷/۸ میلی‌گرم بر لیتر طی ۱۸ روز تولید شد. در نمونه ورودی به همراه کربنات سدیم، نیتریتی تولید نشده بود. عدم تولید نیتریت در نمونه‌های حاوی پسابهای ورودی به همراه کربنات و فاقد باکتری‌های اتوتروف غنی شده، نشانه عدم حذف آمونیاک نیست. آمونیاک با همکاری باکتری‌های نیتریفیکاتور و دنیتریفیکاتور موجود در پساب مراحل حذف را طی می‌کند، ولی به دلیل غنی نبودن این باکتری‌ها این مراحل به کُندی و با راندمان پایین صورت می‌گیرد. در نمونه‌های حاوی باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک غنی شده به دلیل تعداد زیاد این باکتری‌ها، توانایی حذف آمونیاک زیاد می‌باشد و به دلیل تولید زیاد نیتریت، با وجود تبدیل نیتریت به دیگر متابولیت‌های چرخه نیتروژن شاهد سیر صعودی میزان نیتریت هستیم.



شکل۲- میزان تولید نیتریت از پساب ورودی

www.SID.ir



شکل ۳ - حذف آمونیاک از پساب خروجی

۳-۵- حذف آمونیاک از پساب خروجی

این نتایج از تأثیر باکتری‌های اتوتروف غنی‌شده بر روی پساب خروجی به دست آمده است. تیمارهای مختلف انجام شده در قسمت راهنمای شکل ۳ نشان داده شده است.

تفسیر شکل ۳ به شرح زیر می‌باشد:

در نمونه شاهد حذفی صورت نگرفت. همان طور که از این شکل بر می‌آید در نمونه پساب حاوی اتوتروف‌های غنی‌شده و کربنات سدیم طی ۱۴ روز، میزان آمونیاک از۵۶۸ میلی‌گرم بر لیتر (۱۰۰درصد) به صفر رسیده است، در حالی که در نمونه پساب حاوی اتوتروف‌های غنی‌شده بدون کربنات سدیم مقداری اندک در حدود ۵۸ میلی گرم آمونیاک (۹/۶ درصد آمونیاک) در مدت زمان ۱۸ روز حذف گردید. در نمونه پساب به همراه کربنات سدیم میزان ۲۵۴ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک معادل ۱۹۷ میلی‌گرم بر لیتر نیتروژن (۴۲/۷ درصد آمونیاک) در مدت زمان ۱۸ روز حذف گردید.

گرومن[1] و همکاران در سال ۲۰۰۲ [۷]، بولمن[2] و لانبروک[3] در سال ۲۰۰۱ [۶] و کوایی[4] و ورستریت[5] در سال ۱۹۹۸ [۲۲]، از کشت غنی شده به منظور حذف آمونیاک از پسابهای صنعتی استفاده کردند. در این تحقیق از روش کشت غنی شده باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک که کارآیی بالایی در حذف آمونیاک داشتند استفاده شد. روش غنی‌سازی استفاده شده در این تحقیق شبیه به روش استفاده شده توسط کوایی و ورستریت می‌باشد.

۳-۶- تولید نیتریت در پساب خروجی

این نتایج از تأثیر باکتری‌های اتوتروف غنی‌شده بر پساب خروجی به دست آمده است. تیمارهای مختلف انجام شده در قسمت راهنمای شکل ۴ نشان داده شده است.

تفسیر شکل ۴ به شرح زیر می‌باشد:

در نمونه شاهد آمونیاک تولید نشد. در نمونه پساب خروجی و باکتری‌های اتوتروف غنی‌شده همراه با کربنات سدیم میزان ۴۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نیتریت در مدت زمان ۱۴ روز تولید شد. بعد از اتمام آمونیاک محیط، میزان نیتریت رو به کاهش می‌رود که این امر منطقی است؛ به این دلیل که نیتریت در حال تبدیل به دیگر متابولیت‌ها توسط باکتری‌های نیتریفیکاتور و دنیتریفیکاتور موجود در پساب است، ولی نیتریت تولید نمی‌شود. در نمونه پساب خروجی حاوی باکتری‌های اتوتروف غنی‌شده میزان ۹۰ میلی‌گرم بر لیتر نیتریت در مدت زمان ۱۸ روز تولید شد. در نمونه خروجی به همراه کربنات سدیم نیتریتی تولید نشد. علل عدم تولید نیتریت در این نمونه در بخش تولید نیتریت در پساب ورودی تفسیر شده است.

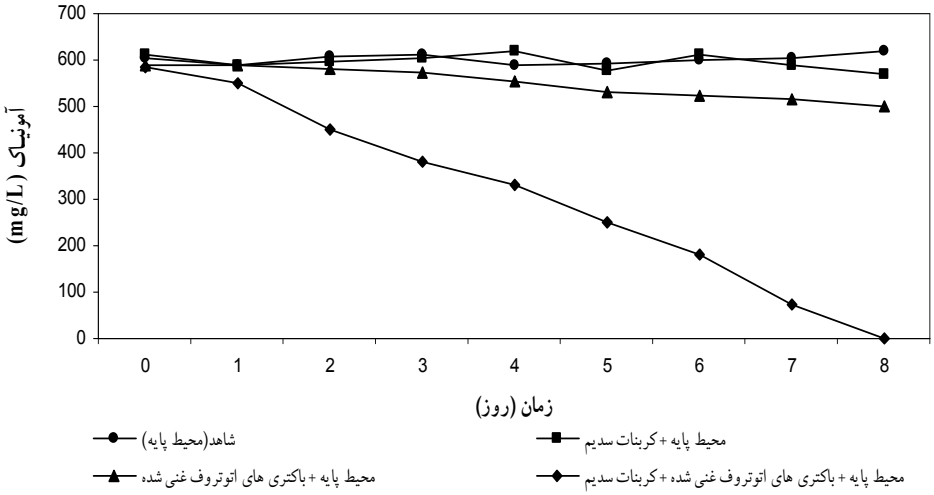
۳-۷- حذف آمونیاک از محیط مصنوعی حاوی مقدار آمونیاک برابر با پساب(۶۰۰mg/L)

تیمارهای مختلف انجام شده در قسمت راهنمای شکل۵ که مربوط به حذف آمونیاک از محیط مصنوعی حاوی مقدار میلی‌گرم آمونیاک

[1] Grommen
[2] Bollmann
[3] Laanbroek
[4] Kuai
[5] Verstreate

Archive of SID
www.SID.ir

شکل۴- میزان تولید نیتریت از پساب خروجی



شکل۵ - حذف آمونیاک در محیط مصنوعی حاوی ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک

بر لیتر برابر با پساب (۶۰۰ میلی گرم بر لیتر آمونیاک) توسط باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک می‌باشد، نشان داده شده است.

تفسیر شکل ۵ ، به شرح زیر می‌باشد:

در نمونه شاهد و نمونه محیط پایه به همراه کربنات سدیم حذفی صورت نگرفت. این نتیجه نشان می‌دهد یون‌های کربنات تأثیری در حذف آمونیاک بدون حضور باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک غنی شده ندارند. در محیط پایه حاوی باکتری‌های اتوتروف همراه با کربنات سدیم، ۵۸۵ میلی‌گرم آمونیاک بر لیتر در مدت زمان ۸ روز حذف گردید، در حالی که در نمونه‌ای که صرفاً حاوی اتوتروف‌های غنی شده بود (فاقد کربنات سدیم) میزان حذف آمونیاک ۸۸ میلی‌گرم بر لیتر بود.

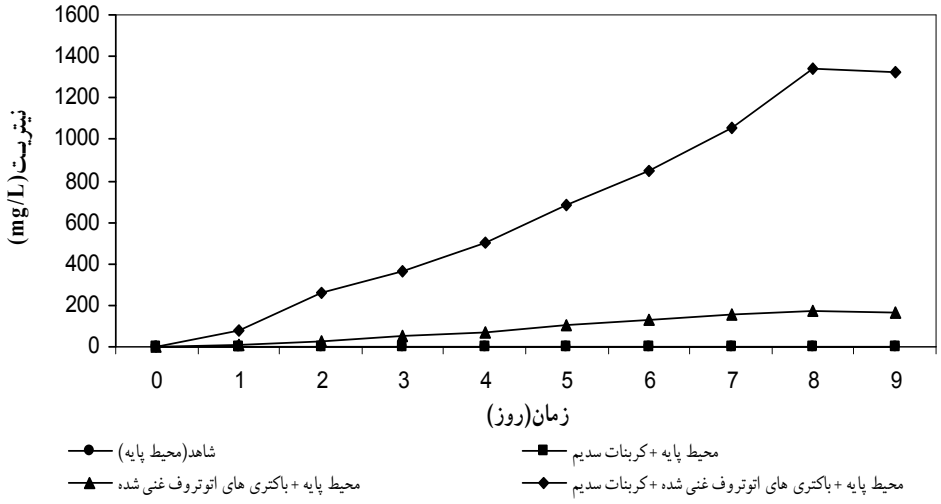
۳-۸- تولید نیتریت در محیط مصنوعی حاوی مقدار آمونیاک برابر با پساب(۶۰۰mg/L)

تیمارهای مختلف انجام شده در قسمت راهنمای شکل۶ که مربوط به تولید نیتریت در محیط مصنوعی حاوی ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک توسط باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک می‌باشد، نشان داده شده است.

تفسیر شکل ۶ ، به شرح زیر می‌باشد:

در نمونه شاهد و نمونه محیط پایه به همراه کربنات سدیم نیتریتی تولید نشد. در محیط پایه حاوی باکتری‌های اتوتروف همراه با کربنات سدیم، میزان تولید نیتریت ۱۳۴۳ میلی‌گرم بر لیتر در مدت زمان ۸ روز می‌باشد؛ در حالی که، در نمونه‌ای که صرفاً حاوی

www.SID.ir



شکل۶- تولید نیتریت در محیط مصنوعی حاوی ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک

جدول۲- مقایسه نتایج حذف آمونیاک در پساب ورودی و خروجی و محیط مصنوعی

پارامتر	ورودی+ کربنات	خروجی+ کربنات	محیط مصنوعی + کربنات	ورودی+ اوتوتروف‌های غنی شده+کربنات	خروجی+ اوتوتروف‌های غنی شده +کربنات	محیط مصنوعی +اوتوتروف‌های غنی شده + کربنات
حذف آمونیاک($mgNH_4^+/L$)	۱۷۵	۲۵۴	۰	۵۵۸	۵۶۸	۵۸۵
تولید نیتریت($mgNO_2^-/L$)	۰	۰	۰	۱۰۵	۴۲۰	۱۳۴۳
حذف آمونیاک(mgN/L)	۱۳۶	۱۹۷	۰	۴۳۴	۴۴۱	۴۸۱/۵
تولید نیتریت (mg N/L)	۰	۰	۰	۳۲	۱۲۷/۸	۴۰۸
درصد حذف آمونیاک	۴۰/۸	۴۲/۷	۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
مدت زمان حذف، روز	۱۸	۱۸	۸	۱۸	۱۴	۸

اتوتروف‌های غنی‌شده بود (فاقد کربنات سدیم) میزان تولید نیتریت ۱۷۴ میلی‌گرم بر لیتر طی۸ روز بود.

۳-۹- مقایسه نتایج حذف آمونیاک و تولید نیتریت از پساب ورودی، خروجی و محیط مصنوعی

همان طور که در جدول ۲ قابل مشاهده است نتایج به دست آمده حاکی از تأثیر منفی فنل در حذف آمونیاک با استفاده از باکتری‌های اتوتروف است. همان‌طور که در نتایج مشخص است کمترین زمان حذف مربوط به محیط مصنوعی به دلیل عدم حضور فنل است.

زمان حذف آمونیاک در پساب خروجی (با میزان ۵۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فنل) نسبت به پساب ورودی (با میزان ۲۵۳۰ میلی‌گرم بر لیتر فنل) کمتر است و کوتاه‌تر شدن زمان به دلیل کاهش میزان فنل پساب است.

حذف آمونیاک بر حسب مقدار نیتروژن نسبت به تولید نیتریت بر حسب مقدار نیتروژن در هر دو پساب در تمامی تیمارهای صورت گرفته بیشتر بوده است و این به دلیل تبدیل فوری نیتریت به دیگر متابولیت‌های مسیر نیتریفیکاسیون و دنیتریفیکاسیون در نمونه‌های مورد بررسی می‌باشد.

نقش مؤثر کربنات سدیم در حذف آمونیاک از پساب در نمونه‌های حاوی باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک غنی شده، کاملاً مشهود است و کربنات سدیم به عنوان عامل بسیار مؤثری در حذف آمونیاک از پساب مطرح می‌گردد. وت[1] و روچ[2] در سال ۲۰۰۳ از یون‌های بی‌کربنات در بالا بردن کارآیی سیستم حذف آمونیاک از پساب استفاده کردند[۱۳]. کاررا[3] و همکاران در سال ۲۰۰۳ از کربنات سدیم به منظور حذف آمونیاک از پساب صنعتی استفاده کردند و آمونیاک را بین ۹۰ تا ۱۰۰ درصد پایین آوردند؛ در حالی که در نمونه‌های بدون کربنات سدیم حذفی صورت نگرفت[۱۲].

[1] Wett
[2] Rauch
[3] Carrera

Archive of SID
www.SID.ir

در این تحقیق نیز از کربنات سدیم استفاده گردید و نمونه‌هایی که با حضور آن آزمایش شدند، میزان حذف قابل توجهی از خود نشان دادند و در تیمار شامل اتوتروف‌های غنی شده و کربنات، شاهد حذف ۱۰۰ درصدی آمونیاک بودیم.

۳-۱۰- نتایج شمارش باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک اتوتروف با روش MPN

در این شمارش، نتایج بر حسب تعداد باکتری در هر میلی‌لیتر نمونه مورد نظر می‌باشد. در نمونه پساب ورودی ۱۰ ×۳/۶، در نمونه پساب خروجی ۱۰×۳/۶ و در نمونه کشت غنی شده باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک $۱۰^{۳} \times ۴/۶$ باکتری در هر میلی‌لیتر نمونه مشاهده شد. مقایسه نتایج فوق نشان می‌دهد که تعداد باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک در کشت غنی‌سازی ۱۲۸ برابر تعداد این باکتری‌ها در پساب ورودی و خروجی می‌باشد و این تعداد بالای باکتری‌ها در این نمونه غنی شده، کارآیی بالای استفاده از کشت غنی شده را در حذف آمونیاک از پساب نشان می‌دهد.

دنالدسن[1] و هندرسن[2] در سال ۱۹۸۹ از روش MPN به منظور شمارش تعداد باکتری‌های اتوتروف اکسید کننده آمونیاک استفاده کردند [۱۸].

۴- نتیجه گیری

در این تحقیق به منظور حذف آمونیاک از پساب کارخانه ذوب‌آهن اصفهان از فرآیند نیتریفیکاسیون استفاده شد. حذف آمونیاک با استفاده از نیتریفیکاتورهای غنی‌شده از پساب ورودی و خروجی در زمانهای مختلف انجام گرفت که میزان حذف در پساب خروجی نسبت به پساب ورودی در مدت زمان کوتاه‌تری صورت پذیرفت. علت کارآیی بالاتر پساب خروجی نسبت به پساب ورودی نیز کاهش فنل در پساب خروجی و در نتیجه افزایش میزان نیتریفیکاسیون در پساب خروجی می‌باشد.

در محیط‌های مصنوعی با درصد آمونیاک مشابه پساب، حذف در مدت کوتاه‌تری انجام گرفت که تأیید کننده اثر بازدارنده فنل پساب بر روی فرآیند نیتریفیکاسیون می‌باشد.

استفاده از کشت غنی شدهٔ باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک روشی مفید در جهت افزایش کارآیی حذف آمونیاک محسوب می‌شود. یون‌های کربنات و بی‌کربنات نیز به عنوان منبع کربن اتوتروف‌ها به محیط کشت آنها اضافه می‌شود و باعث افزایش میزان رشد نیتریفیکاتورها می‌شود.

نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری تعداد باکتری به روش MPN نیز حذف بهتر آمونیاک با حضور کشت غنی شده را تأیید می‌کند.

از نقاط قوت طرح می‌توان به تهیه کشت غنی شده باکتری‌های نیتریفیکاتور و به کارگیری آنها در حذف آمونیاک از پساب صنعتی اشاره کرد، که روشی با کارآیی بالا در جهت حذف آمونیاک از این گونه پسابهاست. نتایج آزمایشگاهی اخذ شده در ارتباط با حذف آمونیاک تأییدی است بر تأثیر بازدارندگی فنل در میزان حذف آمونیاک و می‌تواند به اجرای صنعتی طرح کمک شایانی کند.

در ارتباط با نقاط ضعف این تحقیق می توان به این نکته اشاره کرد که در حوزه صنعت حضور عوامل بازدارنده‌ای همچون فصول مختلف ،حضور باکتری‌های هتروتروف و تغییر در ترکیبات پساب کک می‌تواند کارآیی سیستم را نسبت به مقیاس آزمایشگاهی کاهش دهد.

۵- قدردانی

از مسئولان کارخانه ذوب آهن اصفهان بالاخص مسئولان بخش تحقیقات و فناوری به دلیل کمکهای بسیار ایشان قدردانی می‌شود.

[1] Donaldson
[2] Henderson

۶- مراجع

1- Campos, J. M., Fernandez, J. M. G., Mendez, R., and Lema, J. M. (1999). "Nitrification at high ammonia loading rates in an activated sludge unit." *Bioresource Technology*, 68, 141-148.

2- Anthonisen, A. C., Loehr, R. C., Prakasan, T. B. S., and Srineth, E. G. (1976). "Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid." *J. Water Pollut. Control. Fed.,* 48, 35-52.

3- Strauss, E. A., and Lamberti, G. A. (2000). "Regulation of nitrification in aquatic sediments by organic carbon." *American Society Lim. Ocean.,* 45, 1854-1859.

4- Hagopian, D. S., and Riley, J. G. (1998). "A closer look at the bacteriology of nitrification." *Aquacultural engineering,* 18, 223-244.

5- Madigan, M. T., Martinko, J. M., and Parker, J. (2000). *Brock: biology of microorganisms,* Upper Saddle River, 9th Ed., New Jersey, 991.

Archive of SID
www.SID.ir

6- Bollman, A., and Laanbroek, H. J. (2001). "Continuous culture enrichment of ammonia-oxidizing bacteria at low ammonium concentration." *FEMS. Microbiol. Ecol.,* 37, 211-221.

7- Grommen, R., Hauteghem, I. V., Wambeke, M. V., and Verstraete, W. (2002). "An improved nitrifying enrichment to remove ammonium and nitrite from fresh water aquaria systems." *Aquaculture,* 211, 115-124.

8- Aleksieva, Z., Ivanova, D., Godjevargova, T., and Atanasov, B. (2002). "A degradation of some phenol derivatives by *Trichosporon cutaneum* R57." *Process Biochemistry,* 37, 1215-1219.

9- Yamagishi, T., Leite, J., Ueda, S., Yamaguchi, F., and Suwa, Y. (2001). "Simultaneous removal of phenol and ammonia by a activated sludge process with cross flow filtration." *Water. Res.,* 35, 3089-3096.

10- Komarkova, E., Paca, J., Klapkova, E., Stiborova, M., Soccol, C. R., and Sobotka, M. (2003). "Physiological changes of *Candida tropicalis* population degrading phenol in fed batch reactor." *Brazilian Archives Boil. Technol.,* 46, 537-543.

11- Shiemke, A. K., Arp, D. J., and Soto, L. A. S. (2004). "Inhibition of membrane-bound methane monooxygenase and ammonia monooxygenase by diphenyliodonium: implications for electron transfer." *J. Bacteriol.,* 186, 928-937.

12- Carrera, J., Baeza, J. A., Vicent, T., and Lafuente, J. (2003). "Biological nitrogen removal of high-strength ammonium industrial wastewater with two-sludge system." *Water Res.,* 37, 4211-4221.

13- Wett, B., and Rauch, W. (2003). "The role of inorganic carbon limitation in biological nitrogen removal of extremely ammonia concentrated wastewater." *Water Res.,* 37, 1100-1110.

14- Aakra, A., Utaker, J. B., Nes, I. F., and Bakken, L. R. (1999). "An evaluated improvement of the extinction dilution method for isolation of ammonia-oxidizing bacteria." *J. Microbiol. Methods,* 39, 23-31.

15- Jiang, Q. Q., and Bakken, L. R. (1999)."Comparison of nitrosospira strains isolated from terrestrial environments." *FEMS. Microbiol. Ecol.,* 30, 171-186.

16- Greenbery, A. E., Trussell, R. R., and Clesceri, L. S. (1985). *Standard methods for the examination of water and wastewater,* American Public Health Association, 16th Ed., Washington D.C.

17- Quintana, M. G., Didion, C., and Dalton, H. (1997). "Colorimetric method for a rapid detection of oxygenated aromatic biotransformation products." *Biotech. Techniques,* 11, 585-587.

18- Donaldson, J. M., and Henderson, G. S. (1989). "A dilute medium to determine population size of ammonium oxidizers in forest soils." *Soil Sci. Soc. Am.*, 53, 1608-1611.

19- Oblinger, J. L., and Koburger, J. A. (1975). "Understanding and teaching the most probable number technique." *J. Milk Food Technol.,* 38, 540-545.

20- Ruiz, G., Jeison, D., and Chamya, R. (2003). "Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration." *Water Res.,* 37, 1371-1377.

21- Waston, S. W., Bock, E., Harms, H., Koops, H. P. and Hooper, A.B. (1989). Ammonia-oxidizing bacteria. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. (Staley, J. T., Bryant, M. P., Pfenning, N. and Holt, J. G.). Williams and Wilkins, Baltimore, Vol. 3, 1818-1833.

22- Kuai, L., and verstraete, W. (1998). "Ammonium removal by the oxygen-limited autotrophic nitrification-denitrification system." *Appl. Environ. microbiol*., 64, 4500-4506.

Archive of SID

www.SID.ir