تئوری‌های مختلف گرانولاسیون لجن در شرایط بی‌هوازی

جلال شایگان [۱] محمد صالح یوسف‌نژاد [۲] آزاده همتی [۲]

(دریافت ۸۸/۱/۱۹ پذیرش ۸۸/۱۰/۱۵)

چکیده

در این مقاله تئوری‌های مختلف گرانولاسیون بی‌هوازی لجن مورد بررسی قرار گرفت. به‌طور کلی این تئوری‌ها را می‌توان در سه دسته فیزیکی، میکربی و ترمودینامیکی تقسیم‌بندی نمود. در نگرش فیزیکی به فرایند گرانولاسیون، پدیده بر حسب ملاحظه شرایط فیزیکی حاکم بر راکتور، مانند سرعت جریان‌های رو به بالای گاز و مایع، جامدات معلق در جریان خروجی یا هسته لجن، خردشدن و حذف لجن اضافی، توضیح داده می‌شود. تئوری‌های میکربی، گرانولاسیون لجن را بر مبنای ویژگی‌های ارگانیسم‌های معین و مشخص و نیز مشاهده خصوصیات گرانول‌ها از جمله ساختار گرانول و میکروبیولوژی مربوط به آن، تشریح می‌کنند. در دیدگاه ترمودینامیکی، عواملی نظیر آبگریزی، تحرک الکتروفورتیکی، انرژی درگیر در فرایند چسبیدن و تأثیر فعالیت جابجایی پروتون در سطح غشاهای باکتریایی مورد بررسی قرار می‌گیرند.

واژه‌های کلیدی: گرانولاسیون بی‌هوازی، تئوری‌های گرانولاسیون، فیزیکی، میکربی، ترمودینامیکی، راکتور UASB

A Survey of Sludge Granulation Theories Under Anaerobic Conditions

Jalal Shayegan [1] *Mohammad Saleh Yousefnejad [2]* *Azadeh Hemmati [2]*

(Received Apr. 8, 2009 Accepted Jan. 5, 2010)

Abstract

This paper surveys the different theories developed on anaerobic sludge granulation. The theories are generally categorized as physical, microbial, and thermodynamic approaches. In the physical approach to the granulation process, granulation is described by such physical conditions of the reactor as upflow velocity of gas and liquid streams, suspended solids in the effluent flow, and excess sludge removal. Microbial theories are based on the properties of specific organisms and on granule properties (granule structure and its microbiology). The thermodynamic approach studies such factors as hydrophobia, electrophoretic mobility, effective energy in granule adhesion process, and effect of proton transferring activities on bacterial membrane surfaces.

Keywords: Anaerobic Granulation, Granulation Theories, Physical, Microbial, Thermodynamical, UASB Reactor.

۱- استاد گروه مهندسی محیط زیست، دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه صنعتی شریف، تهران (نویسنده مسئول) ۶۶۱۶۵۴۲۰ (۰۲۱)
shayegan@sharif.edu
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی محیط زیست، دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه صنعتی شریف، تهران

1. Prof. of Environmental Eng., Dept. of Chemistry and Petroleum Eng., Sharif University of Tech., Tehran (Corresponding Author) (+98 21) 66165420, shayegan@sharif.edu
2. Grad. Student of Environmental Eng., Dept. of Chemistry and Petroleum Eng., Sharif University of Tech., Tehran

Archive of SID
www.SID.ir

۱- مقدمه

در فرایندهای تصفیه زیستی، نگهداری میکروارگانیسم‌ها در غلظتهای مناسب و مطلوب عموماً کار مشکلی است. یکی از بهترین روشهای بالا نگه‌داشتن این غلظت، گرانوله کردن لجن فعال است که مهم‌ترین کاربرد آن در راکتورهای UASB است. در سه دهه اخیر راکتور UASB در سطح گسترده‌ای برای تصفیه فاضلابهای صنعتی و شهری مورد استفاده قرار گرفته است. این نوع راکتور مزایای زیادی از قبیل توان پذیرش بار آلی بالا، نیاز به انرژی کم، زمان ماند هیدرولیکی کوتاه و ساختار ساده را داراست. پارامترهای مهم مؤثر بر بازدهی راکتورهای UASB عبارت‌اند از: فرایند گرانولاسیون در راکتور، خصوصیات فاضلابی که باید تصفیه شود، انتخاب لجن نطفه[1] و تأثیر مواد مغذی افزودنی. در میان این پارامترها فرایند گرانولاسیون از اهمیت بسزایی برخوردار است. مشخصه‌های گرانول‌ها به‌شرح زیر است:

۱- تقریباً صاف و گرد هستند؛
۲- ته‌نشینی خوبی دارند؛
۳- ساختار میکربی قوی داشته و متراکم هستند؛
۴- زمان اقامت زیست توده[2] در آنها زیاد است؛
۵- در بار آلی بالا توانایی استقامت دارند ؛
۶- آستانه سمیّت آن‌ها بالاست.

تشکیل لجن گرانوله در شرایط بی‌هوازی را می‌توان علت اصلی موفقیت راکتور UASB در تصفیه بی‌هوازی فاضلاب دانست. ارتباط نزدیکی بین کارایی این نوع راکتور و ایجاد لجن گرانوله‌شده وجود دارد. فرایند گرانولاسیون اجازه می‌دهد تا سرعتهای بارگذاری در راکتورهای UASB بسیار فراتر از سرعتهای بارگذاری متداول باشد که تا به‌حال در دیگر فرایندهای زیستی مرسوم به‌کار رفته است. حاصل این فرایند، کاهش در اندازه راکتور و سطح موردنیاز برای عمل تصفیه است که درنتیجه آن هزینه‌های سرمایه‌گذاری کاهش می‌یابد. علاوه بر این به علت عدم استفاده از هوادهی، هزینه‌های عملیاتی نیز کمتر می‌شود.

دو عامل اصلی، سرعتهای بارگذاری بالا را امکان‌پذیر می‌سازد:

۱- ویژگی‌های ته‌نشینی بی‌نظیر لجن گرانوله. سرعت ته‌نشینی متداول برای لجن گرانوله تقریباً ۶۰ متر بر ساعت است در حالی که سرعت ظاهری جریان رو به بالا در راکتورهای UASB معمولاً زیر ۲ متر بر ساعت نگه داشته می‌شود. این موضوع سبب گسستگی فوق‌العاده زیاد زمان ماند هیدرولیکی[3] از زمان ماند جامد[4] (یا عمر لجن) می‌گردد. زمان‌های ماند جامد بالاتر از ۲۰۰ روز را می‌توان در زمان ماند هیدرولیکی فقط ۶ ساعت به‌دست آورد.

۲- فعالیت متانوژنیک ویژه لجن گرانوله زیاد است. این فرایند با سرعتهای بارگذاری آلی با بیش از ۵۰ کیلوگرم COD بر متر مکعب در روز، تحت شرایط مزوفیلیک و با فعالیت متانوژنیک ویژه بیش از ۲ کیلوگرم VSS در روز به خوبی سازگار می‌شود.

مطالعات میکرومورفولوژی گرانول‌ها نشان داده که کلونی‌های باکتری استوژن به‌صورت فشرده و تنگاتنگ به کلونی‌های بسیار کوچک باکتری متانوژن هیدروژنوتروفیک متصل شده و این عمل سبب انتقال هیدروژن بین اجزای گرانول گردیده و درنتیجه سرعتهای تجزیه بالایی حاصل می‌گردد. گرانولاسیون لجن در راکتور UASB، زمان ماند را بهینه می‌کند زیرا مشکلات ناشی از فرار لجن[5] حداقل می‌شود. با این وجود تغییرات در pH، عدم توازن مواد مغذی و یا حضور ترکیبات سمّی در سوبسترا می‌تواند به ساختار گرانول آسیب برساند و به‌دنبال آن بازدهی فرایند کاهش یابد.

اولین گزارشها مربوط به گرانولاسیون لجن توسط لتینگا و همکاران[6] در سال ۱۹۸۰-۱۹۷۹ منتشر شده است. هم اکنون بیش از ۲۷ سال است که بسیاری از محققان در سراسر دنیا فرایند گرانولاسیون را مورد مطالعه و بررسی قرار داده‌اند. با این وجود، هنوز هم اتفاق نظر در مورد تعیین مکانیسم فرایند گرانولاسیون وجود ندارد. یک ارگانیسم کلیدی در گرانولاسیون لجن در شرایط بی‌هوازی، *متانوسانتاکنسیلی*[7] است. در اکثر مطالعات از نام مترادف آن یعنی *سون جنیل متانوثریکس*[8] استفاده شده است.

۲- تئوری‌های مربوط به گرانولاسیون

تئوری‌های گرانولاسیون لجن در شرایط بی‌هوازی را می‌توان در سه دسته رویکرد فیزیکی، میکربی و ترمودینامیکی تقسیم‌بندی نمود که هر سه به‌عنوان عوامل اصلی مسئول تشکیل گرانول، مورد ملاحظه قرار گرفته‌اند. این تئوری‌ها در جدول ۱ نشان داده شده‌اند.

۲-۱- تئوری‌های فیزیکی

در این شیوه نگرش به فرایند گرانولاسیون، پدیده بر حسب ملاحظه شرایط فیزیکی حاکم بر راکتور توضیح داده می‌شود. سرعت جریان‌های رو به بالای گاز و مایع، جامدات معلق در جریان خروجی یا هسته لجن، خردشدن و حذف لجن اضافی از راکتور به‌عنوان عوامل مسئول در گرانولاسیون بررسی می‌گردند. در ادامه تئوری‌های موجود در این زمینه توضیح داده شده‌اند.

---
[1] Inoculum
[2] Biomass
[3] Hydraulic Retention Time (HRT)
[4] Solid Retention Time (SRT)
[5] Washout
[6] Lettinga et al
[7] *Methanosanta Concilii*
[8] *Methanothrix Soehngenil*

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱- تئوری‌های مختلف گرانولاسیون لجن در شرایط بی‌هوازی

رویکرد		مرجع	نام تئوری
فیزیکی		[۱]	فشار انتخابی
		[۲]	رشد جامدات معلق کلونی شده
	فیزیولوژیکی	[۲]	-
		[۴]	تئوری کیپ تاون
	رشد	[۵]	تئوری اسپاگتی
		[۶]	-
میکربی		[۷]	پل‌سازی ریز لخته‌ها
		[۸]	دسته‌های *متانوتریکس*
	اکولوژیکی	[۹]	سه نوع گرانول تجزیه کننده VFA
		[۱۰]	گرانول‌های چند لایه با مراکز هسته‌زایی
		[۱۱]	مدل چهار مرحله‌ای تشکیل گرانول
ترمودینامیکی		[۱۲]	مدل کششی سطحی
		[۱۳]	جابجایی پروتون- آب‌زدایی

۲-۱-۱-تئوری فشار انتخابی (۱۹۸۳)

در این تئوری اعتقاد بر این است که ماهیت فرایند گرانولاسیون در یک راکتور UASB، گزینش پیوسته ذرات لجن است که درون راکتور رخ می‌دهد. فشار انتخابی را می‌توان به‌صورت مجموعه سرعت بارگذاری هیدرولیکی[1] و سرعت بارگذاری گازها[2] (که به سرعت بارگذاری لجن بستگی دارد) در نظر گرفت. هر دو عامل در گزینش بین اجزای لجن با خصوصیات ته‌نشینی متفاوت، اهمیت دارند.

تحت شرایط فشار انتخابی بالا، لجن سبک و پراکنده از درون راکتور بیرون رانده می‌شود درحالی‌که اجزای سنگین‌تر درون راکتور باقی می‌مانند. بنابراین رشد لجنی که پراکندگی زیادی دارد به کمترین میزان می‌رسد و رشد باکتریایی در اطراف تعداد محدودی از هسته‌های رشد، صورت می‌پذیرد که شامل مواد حامل آلی و غیرآلی بی‌اثر یا مجموعه‌های باکتریایی کوچک موجود در هسته لجن است. این هسته‌های رشد تا یک اندازه بیشینه معین می‌گردند. پس از آن اجزای گرانول از هم جدا شده و هسته‌های رشد جدیدی را تولید می‌کند و این فرایند به‌طور پیوسته ادامه می‌یابد.

تحت شرایط فشار انتخابی پایین، رشد عمدتاً به‌صورت زیست‌توده پراکنده اتفاق می‌افتد که افزایش نوع توده‌ای[3] لجن را به‌دنبال خواهد داشت. ارگانیسم غالب در راکتورهای بی‌هوازی، *متانوتریکس* است که قادر به تشکیل رشته‌های بسیار طویل می‌باشد (۳۰۰-۲۰۰ میکرومتر). زمانی‌که این ارگانیسم‌ها بدون اتصال به یک ذره نگه‌دارنده جامد رشد می‌کنند، یک ساختار درهم تنیده شده بدون استحکام از رشته‌ها با خصوصیات ته‌نشینی بسیار ضعیف حاصل می‌شود. علاوه بر این، از طریق اتصال حبابهای گاز به این رشته‌های درهم تنیده بدون استحکام، حتی تمایل به شناورشدن در لجن به وجود می‌آید[۱۴].

۲-۱-۲-رشد جامدات معلق کلونی شده (۱۹۹۴)

پی یربام[4] ادعا کرده است که گرانول‌ها از ذرات ریز ایجادشده توسط خردشدن و از کلونی‌شدن ذرات جامد معلق موجود در جریان ورودی، سرچشمه می‌گیرند (شکل ۱) [۲]. همچنین، طبق این تئوری، افزایش اندازه گرانول فقط به‌دلیل رشد است و بنابراین لایه‌های متحدالمرکزی که بر روی گرانول‌های برش‌خورده مشاهده می‌شود مربوط به نوسانات اندکی در شرایط رشد است.

مطابق این نظریه، توزیع اندازه گرانول‌ها در راکتورهای UASB، نتیجه رشدیافتن ذرات کوچک (که از طریق جریان ورودی به داخل راکتور آورده شده یا توسط خردشدن درون راکتور تولید می‌گردند) و تبدیل آنها به گرانول‌های بزرگ‌تر و حذف مقادیری از گرانول‌ها با اندازه‌گیری مختلف توسط تخلیه لجن است (شکل ۱). علاوه بر این، فاضلابهای با غلظت بالای ذرات معلق جامد منجر به توزیع اندازه محدود می‌شود در حالی که مقادیر کم یا عدم حضور ذرات معلق جامد در جریان ورودی موجب توزیع اندازه گسترده‌ای می‌گردد.

۲-۲-تئوری‌های میکربی

این تئوری‌ها، گرانولاسیون لجن را عمدتاً برمبنای ویژگی‌های ارگانیسم‌های معین و مشخصی تشریح می‌کنند. در این رویکرد، عوامل فیزیکی که در تئوری‌های فیزیکی ارائه شده نیز اغلب گنجانده شده است. مشاهدهٔ خصوصیات گرانول‌ها یعنی ساختار گرانول و میکروبیولوژی مربوط به آن، به‌علاوه شرایطی که درون راکتور حاکم است (هیدرودینامیک، زیست مایه[5] و نمودارهای غلظت مواد تولید شده میانی در طول راکتور و غیره) مبنای تئوری‌های ارائه شده هستند.

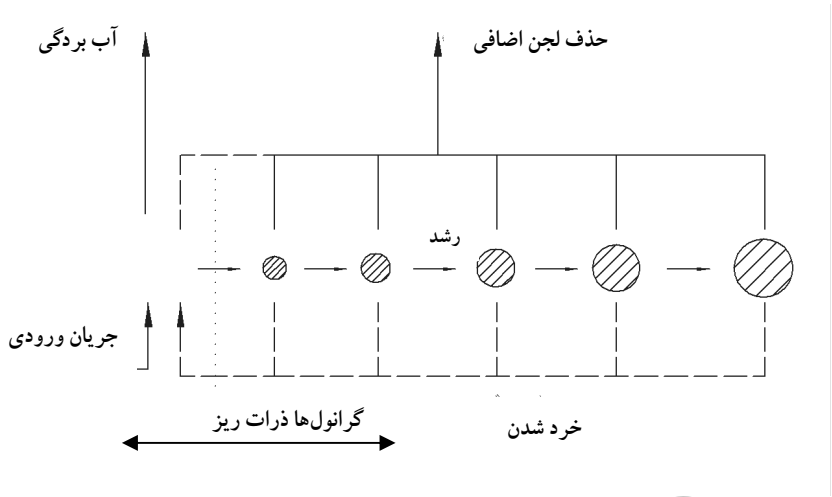
۲-۲-۱-رویکرد فیزیولوژیکی

پس از دالفینگ[6]، تولید پلیمرهای برون سلولی[7] به‌وسیله برخی از میکروارگانیسم‌ها تحت شرایط معین به‌عنوان عامل مسئول در

[1] Hydraulic Loading Rate (HLR)
[2] Gas Loading Rate (GLR)
[3] Bulking type

[4] Pereboom
[5] Substrate
[6] Dolfing
[7] Extracellular Polymers (ECP)

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱- مدل توزیع اندازه برای گرانول‌های متانوژنیک [۳]

پدیده گرانولاسیون بی‌هوازی، توسط چندین پژوهشگر مورد بررسی قرار گرفته است [۳].

۲-۲-۱-۱-فرضیه کیپ‌تاون[1] (۱۹۸۷)

طبق نظر سمسون و همکاران[2]، گرانولاسیون به نژاد AZ متانوباکتری وابسته است [۴]. این ارگانیسم، H_2 را به‌عنوان تنها منبع انرژی‌اش مصرف می‌کند و قادر به تولید همه اسیدهای آمینه خود به جز سیستئین است. زمانی که این میکروارگانیسم در یک محیط با فشار جزئی H_2 بالا مانند حضور زیست مایه زیاد قرار داشته باشد، رشد سلولی و تولید اسیدهای آمینه تحریک خواهد شد.

با این وجود، به‌دلیل اینکه نژاد AZ متانوباکتری قادر به تولید اسید آمینه ضروری سیستئین نیست، سنتز سلولی توسط نرخ تولید سیستئین محدود خواهد شد. علاوه بر این اگر آمونیوم موجود باشد، اسیدهای آمینه دیگری به مقدار زیاد توسط نژاد AZ متانوباکتری به‌صورت پلی‌پپتید برون سلولی تولید می‌شوند که این باکتری و سایر باکتری‌ها را برای تشکیل گرانول به هم متصل می‌نماید. به هر حال پژوهشگران پذیرفته‌اند که سایر باکتری‌های بی‌هوازی نیز ممکن است خصوصیاتی شبیه به نژاد AZ متانوباکتری داشته باشد و در تشکیل گرانول مشارکت نمایند.

طبق این فرضیه، شرایطی که برای گرانولاسیون مساعد است عبارت‌اند از:

۱- محیطی با فشار جزئی بالای هیدروژن،

۲- راکتوری با جریان قالبی[3] یا شبه قالبی[4] (برای تحقق جداسازی فازی) با pH نزدیک به حالت خنثی،

۳- منبع نامحدود نیتروژن، به‌صورت آمونیوم و

۴- مقدار محدود سیستئین.

بنابراین بسیار محتمل است که گرانولاسیون در هنگام تبدیل سوبسترای کربوهیدرات در یک سیستم جریان قالبی رخ دهد. هیدروژن در زمان تبدیل کربوهیدرات‌ها به اسیدهای چرب فرار، آزاد می‌شود. تحت شرایط بارگذاری آلی بالا، سرعت جذب H_2 توسط ارگانیسم‌های مصرف‌کننده H_2، کمتر از سرعت تولید H_2 می‌باشد و منطقهٔ فشار جزئی H_2 بالا، توسعه می‌یابد. این منطقه در یک سیستم جریان قالبی محفوظ می‌ماند، بنابراین شرایط رشد و توسعه نژاد AZ متانوباکتری را فراهم می‌کند.

شرایطی که تحت آن، تشکیل گرانول طبق فرضیه کیپ تاون غیر محتمل است، عبارت‌اند از:

۱- سیستم‌هایی مانند استات که در آنها زیست مایه در فرایند تخمیر، H_2 تولید نمی‌کند و یا فقط قادر به تجزیه تحت شرایط فشار جزئی H_2 پایین است (مانند پروپیونات و لیپیدها)؛

۲- سیستم‌های اختلاط کامل، به‌علت رقیق‌شدن فشار جزئی بالای H_2.

با این وجود گرانولاسیون در راکتورهای UASB که استات را مورد عمل قرار می‌دهند، مشاهده شده که نشان می‌دهد فرضیه نقض شده است. علاوه بر این، رفتار هیدرودینامیکی در راکتورهای UASB معمولاً به رژیم جریانی اختلاط کامل شبیه است و به‌این معنی است که پروفیل هیدروژن در ارتفاع راکتور شیب‌دار نخواهد بود. همچنین گزارش داده شده که با زیست مایه حاوی پروتئین (کاستئین)، گرانولاسیون به آسانی در یک راکتور UASB رخ داده است و این سیستم رفتاری بسیار شبیه به سیستم مشابهی داشته که زیست مایه آن کربوهیدرات بوده است [۱۴].

[1] Cape Town
[2] Sam – Soon et al
[3] Plug Flow
[4] Semi- Plug

Archive of SID
www.SID.ir

۲-۲-۲- رشد هسته‌های میکربی

۲-۲-۲-۱-تئوری اسپاگتی در سال ۱۹۸۷

ویگانت[1] فرضیه‌ای را در مورد گرانوله‌شدن لجن در راکتورهای UASB که فاضلابهای اسیدی‌شده، محلول‌های استات یا مخلوط اسیدهای چرب فرار را با باکتری غالب *متانوثریکس* مورد عمل قرار می‌دهند، پیشنهاد کرد. اگرچه راکتورهایی با گونه‌های غالب *متانوثریکس* می‌توانند گرانول‌های یکباره[2] تولید نمایند، اما این نوع از گرانول‌ها به‌علت مشکلات عملیاتی که ایجاد می‌کنند، از اهمیت کمتری در راکتورهای UASB برخوردارند. بنابراین، انتخاب شرایط باید به گونه‌ای باشد که غلظت باکتری *متانوثریکس* به اندازه کافی زیاد باشد. این موضوع را می‌توان به‌وسیلهٔ استفاده از غلظتهای پایین استات در مرحله راه‌اندازی[3] عملی نمود زیرا *متانوثریکس* تمایل بیشتری برای مصرف استات در مقایسه با *متانوسارسینا*[4] دارد. ویگانت تشکیل گرانول را به دو مرحله تقسیم‌بندی کرد :

۱- تشکیل پیش‌ماده‌ها[5]

۲- رشد حقیقی گرانول‌ها از این پیشامدها

مرحله نخست، حیاتی‌ترین بخش تشکیل گرانول است. در ابتدا باکتری *متانوثریکس* به‌علت تلاطم ایجادشده توسط تولید گاز، با اتصال به مواد ریز پراکنده، لخته‌های بسیار کوچکی را تشکیل می‌دهند. غلظت مواد جامد معلق نباید خیلی زیاد باشد، در غیر این صورت افزایش اندازه لخته‌ها بسیار کند خواهد بود. گزینش لخته‌ها به‌وسیلهٔ یک سرعت افزایشی برای جریان بالارو صورت می‌پذیرد. زمانی که پیش‌ماده‌ها شکل گرفتند و یک افزایش سرعت مناسب و یکنواخت به‌کار گرفته شد، تشکیل گرانول حتمی است. رشد جداگانه باکتری‌ها و به دام انداختن باکتری‌های غیرمتصل موجب رشد ذرات پیش‌ماده و تبدیل آنها به گرانول می‌شود. به‌علت نیروهای برشی هیدرولیکی ناشی از جریان روبه‌بالای بیوگاز، شکل گرانول‌ها کروی می‌شود. در این حالت گرانول‌ها هنوز ظاهری رشته مانند دارند که شبیه به یک توپ اسپاگتی است و از زنجیره‌های بسیار بلند *متانوثریکس* که بخشی از آن درون گلوله و بخشی دیگر آزاد و رهاست، تشکیل شده‌اند. با گذشت زمان و به‌علت افزایش دانسیته توده باکتریایی، از این گرانول‌های رشته مانند در زمان‌های مانند بالای زیست توده، گرانول‌های میله مانند تشکیل می‌گردند.

مشابه فرضیه ویگانت، چن[6] و لون[7] فرضیه‌ای را برای گرانولاسیون بی‌هوازی لجن در یک UASB که با فاضلاب تخمیر و تقطیر الکلی خوراک‌دهی شده بود، ارائه کردند که قابل تقسیم به دو مرحله زیر است [۶]:

۱- تشکیل هسته

۲- رشد هسته و تبدیل آن به گرانول.

هر دو نوع باکتری *متانوثریکس* و *متانوسارسینا* به‌عنوان میکروارگانیسم‌های مسئول تشکیل هسته مورد ملاحظه قرار گرفتند. در ابتدا به‌علت قابلیت چسبندگی خوب *متانوثریکس* و در ادامه به‌دلیل قابلیت رشد آن به‌صورت مجموعه که به‌وسیلهٔ ترشح پلیمرهای برون‌سلولی صورت می‌پذیرد، این نوع از باکتری‌ها می‌توانند به‌هم بچسبند. در طول مرحله دوم که در آن، هسته‌ها به‌صورت گرانول توسعه می‌یابند، باکتری‌های مختلف دیگری در کنار متانوژن‌ها نقش مهمی را ایفا می‌کنند. این باکتری‌ها باید رشدی سازگار با زیست مایه‌های پیچیده داشته باشند.

۲-۲-۳- رویکرد اکولوژیکی

۲-۲-۳-۱- پل‌سازی زیرلخته‌ها[8] به‌وسیلهٔ رشته‌های متانوثریکس (۱۹۸۷)

دبورگیر و همکاران[9] از طریق آزمایش‌های میکروسکوپیک و اندازه‌گیری‌های فعالیت، پیشنهاد دادند که مکانیسم گرانولاسیون با پوشانده شدن *متانوثریکس* رشته مانند به‌وسیله کلونی‌های باکتری‌های اسیدوژنیک و تشکیل ریزلخته‌هایی با اندازه ۱۰ تا ۵۰ میکرومتر آغاز می‌شود [۷]. ویژگی‌های سطحی و ریخت‌شناسی، وجود پلهایی را بین ریزلخته‌های مختلف که نهایتاً منجر به تشکیل گرانول‌های بزرگ‌تر (>۲۰۰μm) می‌شود تأیید کردند. رشد و توسعه بیشتر اسیدوژن‌ها و باکتری‌های سازگار دیگر سبب رشد گرانول‌ها می‌شود. از این رو، محققان مذکور از این ایده حمایت می‌کنند که *متانوثریکس* ازطریق تشکیل شبکه‌ای که موجب تثبیت ساختار کلی گرانول می‌شود، نقش مهمی را ایفا می‌نمایند. آنها همچنین بر نقش پلیمرهای برون سلولی و دیواره‌های سلولی تأکید کرده‌اند.

۲-۲-۳-۲- دسته‌های *متانوثریکس* احاطه‌شده توسط ECP (۱۹۹۱)

مورگان و همکاران[10] مکانیسمی را در رابطه با رشد گرانول‌های بی‌هوازی بر مبنای آزمایش‌های انجام شده بر روی گرانول‌های فاضلاب خروجی از کارخانجات کاغذسازی و تصفیهٔ شکر، پیشنهاد نمودند [۸]. به عقیده آنها گرانول‌ها از پیش ماده‌ای که شامل تجمعات کوچک *متانوثریکس* و سایر باکتری‌ها است، توسعه می‌یابند. رشد رشته‌های *متانوثریکس*، دسته‌های مجزایی را تشکیل

[1] Wiegant
[2] Spontaneous granulation
[3] Start- up
[4] *Methanosarcina*
[5] Precursors
[6] Chen
[7] Lun

[8] Bridging of microflocs
[9] Dubourgier et al.
[10] Morgan et al.

Archive of SID
www.SID.ir

می‌دهد که به‌وسیله شبکه‌ای از باکتری‌های متانوژن و غیرمتانوژن که آنها را احاطه کرده‌اند، از هم جدا می‌شوند. همان‌طور که اندازه دسته‌ها افزایش می‌یابد از ورود شبکه احاطه‌کننده به منطقه نزدیک مرکز گرانول که منحصراً از رشته‌های متراکم *متانوتریکس* تشکیل شده و دسته‌های مجزا در آن قابل تمایز نیستند، ممانعت به‌عمل می‌آید. بنابراین، این محققان از پیشنهادهای قبلی مبنی بر اهمیت *متانوتریکس* و پلیمرهای باکتریایی در رشد گرانول‌ها حمایت کرده‌اند. نتایج به‌دست آمده از آزمایش‌های زو و همکاران[1] نشان می‌دهد که افزایش OLR و محتوای ECP (پلیمر چند سلولی) و تشکیل گرانول شدیداً به یکدیگر وابسته است [۱۵].

ECP ترکیبی از پروتئین، پلی ساکاریدها، اسید هیومیک، اسید اورانیک و مقدار کمی چربی و اسید نوکلییک است. ECP موجود در لجن برای یک دوره تناوب کوتاه در شرایط فزون باری[2] تجمع می‌یابد و تجمع آن موجب بهبود فرایند گرانولاسیون می‌شود.

باید توجه داشت که فزون باری پیوسته موجب زوال فعالیت متانوژنیک‌ها می‌شود و توازن میان خوراک و نیاز زیستی را برهم می‌زند.

ECP به‌علت ترکیب و ساختار شیمیایی خود بر روی خواص سطحی گروههای تجمع یافته باکتریایی تأثیر می‌گذارد و به آنها کمک می‌کند تا به هم بچسبند. همچنین می‌توان فرایند گرانولاسیون را با افزودن پلیمر مصنوعی، همانند پلیمرهای جاذب آب و هیبریدی و کاتیونی که توسط رندال[3] و ریچارد[4] توصیه شده‌اند، بهبود بخشید [۱۶].

البته مصرف پلیمرهای مصنوعی برای راکتورهای UASB در مقیاس صنعتی بسیار هزینه بر است.

۲-۲-۳-۳-گرانول‌های تجزیه‌کننده اسیدهای چرب فرّار (۱۹۸۰)

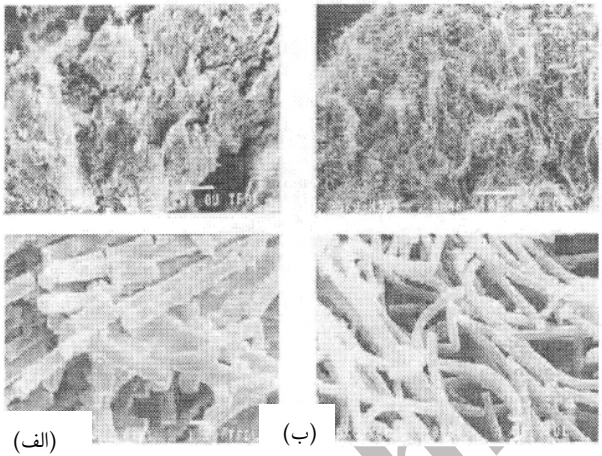
در این تئوری گرانولاسیون، دو نوع باکتری بیشترین اهمیت را در تشکیل گرانول دارند: *متانوتریکس* و *متانوسارسینا*. دی زیو[5] تشکیل انواع مختلف گرانول را در آزمایش‌های راه‌اندازی راکتور UASB در مقیاس آزمایشگاهی تشریح نمود [۹]. در این آزمایش‌ها از لجن هضم شده به‌عنوان لجن نطفه و از اسیدهای چرب فرّار به‌عنوان زیست توده استفاده شد. گرانول‌های تشکیل شده عبارت‌اند از :

۱- گرانول‌های میله‌ای:[6] گرانول‌های کروی متراکم که عمدتاً از باکتری‌های میله‌ای شکل همانند *سون‌جنیل‌متانوتریکس* در زنجیره‌های کوتاه یا سلول‌های منفرد تشکیل شده‌اند (شکل ۲-الف).

۲- گرانول‌های رشته مانند:[7] گرانول‌های کم و بیش کروی که عمدتاً از باکتری‌های رشته مانند تشکیل شده و تراکم کمی، درهم تنیده شده و به یک ذره خنثی متصل گردیده‌اند (شکل ۲-ب). باکتری غالب در این حالت *سون‌جنیل‌متانوتریکس* است.

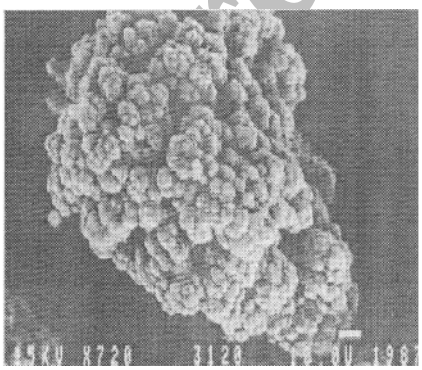
۳- گرانول‌های کروی متراکم که غالباً از باکتری نوع *متانوسارسینا* تشکیل شده‌اند (شکل ۳).

گرانول‌های *متانوسارسینا* به‌علت قابلیت‌شان در ایجاد توده‌های باکتریایی، به‌طور مستقل از فشار انتخابی توسعه می‌یابند. توده‌ها، قابلیت رسیدن به ابعاد ماکروسکوپیک را دارند و حفره‌هایی درون آنها ایجاد می‌شود که سایر گونه‌ها می‌توانند درونشان سکنی گزینند. با این وجود، این نوع از گرانول‌ها فقط در آزمایش‌هایی که غلظت استات به‌عنوان زیست مایه انحصاری، بالای ۱ کیلوگرم COD بر متر مکعب نگه داشته شده بود، یافت گردید و این به‌آن معناست که *متانوسارسینا* توانسته *متانوتریکس* را از گردونه رقابت حذف نماید.



(الف) (ب)

شکل ۲- تصویر SEM از رشد سلول‌های *متانوتریکس* (الف) در زنجیره‌های کوتاه (ب) در رشته‌های بلند [۱۴]



شکل ۳- تجمع باکتری *متانوسارسینا*، موجود در انتهای یک راکتور UASB [۱۴]

[1] Zhou et al.
[2] Overload
[3] Randall
[4] Richard
[5] De Zeeuw
[6] Rod granules
[7] Filamentous granules

www.SID.ir

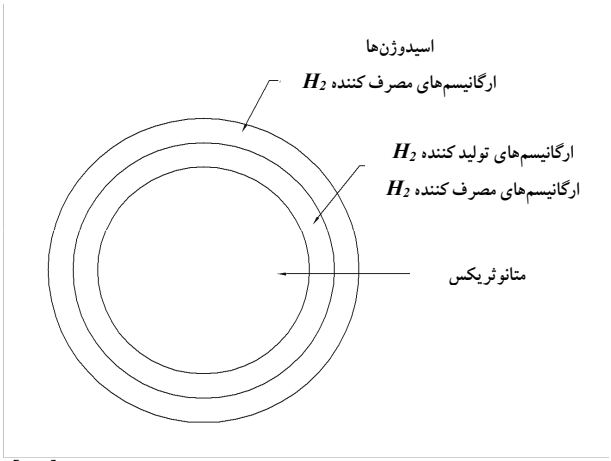
ایجاد گرانول‌های نوع ۱ یا ۲ به زمان ماند متوسط زیست‌توده که در فرایند راه‌اندازی اتفاق می‌افتد، بستگی دارد. هنگامی که زمان ماند متوسط زیست‌توده بسیار کوتاه است، گرانول‌های متراکم که اکثر آنها منحصراً از مادهٔ باکتریایی تشکیل شده‌اند، شانسی برای به‌وجود آمدن ندارند. به‌این معنی که توده‌های بزرگ باکتری‌ها فقط ازطریق اتصال به ذرات نگهدارنده بی‌اثر که برای اقامت طولانی‌تر در راکتور به‌اندازه کافی سنگین هستند، می‌توانند تشکیل شوند (نوع ۲). فقط در حالتی که زمان مانند متوسط زیست توده به اندازه کافی بزرگ باشد، گرانول‌های باکتریایی متراکم (نوع ۱) قادر به تشکیل‌شدن هستند.

۲-۲-۳-۴- گرانول‌های چندلایه یا تجمع‌های *متانوتریکس* به‌عنوان مراکز هسته‌زایی (۱۹۹۰)

مک لئود و همکاران[1] با کار بر روی یک راکتور هیبریدی (UASB و فیلتر بی‌هوازی بالارو) فرضیه‌ای را پیشنهاد نمودند که در آن، تجمع‌های باکتری‌های *متانوتریکس* به‌صورت مراکز هسته‌زایی عمل می‌نمایند و آغازگر توسعه گرانول‌هایی هستند که ساکاروز را تجزیه می‌نمایند (شکل ۴) [۱۰]. تولید کننده‌های استات که شامل استوژن‌های تولیدکننده H_2 هستند در ادامه به این شبکه متصل می‌شوند و زیست مایه لازم برای باکتری‌های *متانوتریکس* را فراهم می‌کنند. این باکتری‌های استوژن به‌همراه ارگانیسم‌های مصرف‌کننده H_2، لایه ثانویه‌ای را در اطراف هسته *متانوتریکس* تشکیل می‌دهند. سپس هنگامی که باکتری‌های تخمیر کننده در تماس با سوبستراهای مورد نیازشان که در توده محلول موجودند، قرار گیرند، به این تجمع‌های کوچک چسبیده و لایه خارجی گرانول را تشکیل می‌دهند. محصولات باکتری‌های تخمیرکننده به‌عنوان خوراک به مصرف استوژن‌های لایه زیرین می‌رسد. چنین آرایش فضایی گروههای باکتریایی مختلف (از نظر وابستگی به غذا) سطح بالایی از فعالیت باکتری‌های استوژنیک را تضمین می‌نماید.

۲-۳- تئوری‌های ترمودینامیکی

برخی از پژوهشگران، مکانیسم تشکیل گرانول را برحسب انرژی درگیر در فرایند چسبیدن به‌علت برهم‌کنش فیزیکی- شیمیایی بین دیواره‌های سلولی یا بین دیواره‌های سلولی و سطوح خارجی، تحلیل کرده‌اند. عواملی نظیر آبگریزی و تحرک الکتروفورتیکی به‌طور واقع‌بینانه مورد توجه قرار گرفته‌اند. همچنین تأثیر فعالیت جابجایی پروتون در سطح غشاهای باکتریایی که موجب انرژی‌دارشدن آن می‌گردد، به عوامل مسئول در فرایند گرانولاسیون افزوده می‌شود.



شکل ۴- ترکیب گرانول پیشنهادشده توسط مک‌لئود و همکاران [۱۰]

۲-۳-۱- مدل چهارمرحله‌ای جهت تشکیل گرانول و بیوفیلم (۱۹۹۶)

آرینگ[2] و اشمیت[3] فرایند گرانولاسیون در راکتورها را با سه مرحله تشکیل بیوفیلم تشریح نموده‌اند [۱۱]:

۱- انتقال سلول‌ها به سطح یک مادهٔ بی‌اثر کلونی‌نشده یا سایر سلول‌ها (لایهٔ زیرین)

۲- جذب سطحی برگشت‌ناپذیر سلول‌ها به لایهٔ زیرین توسط ترشحات میکربی و یا پلیمرها

۳- تکثیر سلولی و توسعه گرانول‌ها.

در یک راکتور UASB، موجودات ذره‌بینی توسط یکی از مکانیسم‌های زیر و یا ترکیبی از آنها منتقل می‌شوند: نفوذ (حرکت براونی)، جابجایی توسط جریان مایع، شناورسازی توسط گاز و ته‌نشینی. جذب سطحی اولیه پس از برخورد میان موجودات و لایه زیرین رخ می‌دهد. لایه زیرین می‌تواند تجمع‌های باکتریایی یا سایر موجودات حاضر در لجن، یا مواد آلی و غیرآلی باشد که به‌صورت هسته‌های رشد، عمل می‌نمایند.

جذب سطحی اولیه را می‌توان به‌طور تقریبی با تئوری DLVO[4] توضیح داد. این تئوری قادر به تشریح و پیش‌بینی چسبندگی میکربی با استفاده از محاسبات تغییرات انرژی آزاد چسبندگی است. با استفاده از این تئوری فرض می‌شود که باکتری‌ها همانند ذرات بی‌اثر رفتار می‌نمایند و چسبندگی باکتریایی توسط یک رویکرد شیمی- فیزیکی قابل فهم می‌شود. تئوری DLVO فرض می‌کند که برهم‌کنش بازه بلند[5] کلی در فواصل بیشتر از ۱ نانومتر،

[1] Mcleod et al.

[2] Ahring
[3] Schmit
[4] Derjaguin, Landau, Verwey and Overbeek
[5] Long-range interaction

Archive of SID
www.SID.ir

از جمع برهمکنش‌های واندروالسی و کولمبی (الکترواستاتیکی) حاصل می‌شود. طبق این نظریه سه وضعیت متفاوت رخ می‌دهد (شکل ۵).

۱- یک نیروی دافعه، زمانی که برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی غالب است.

۲- یک نیروی جاذبهٔ برگشت‌ناپذیر قوی، زمانی که نیروهای واندروالسی غالب هستند (حداقل اولیه).

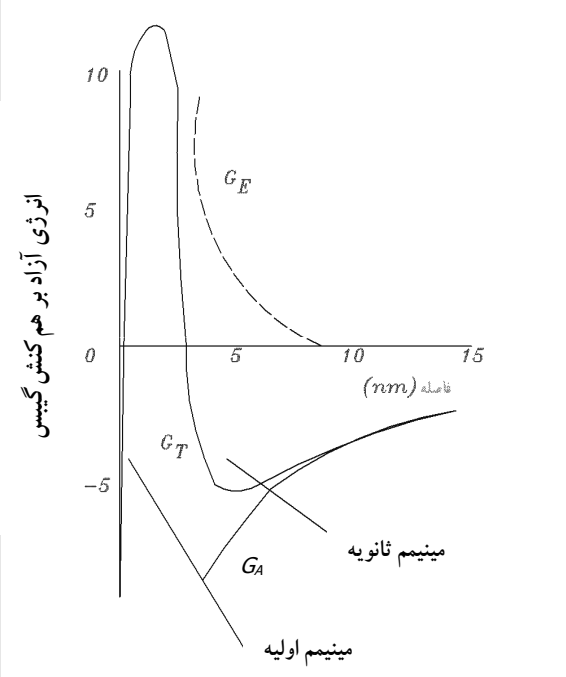
۳- یک نیروی جاذبهٔ برگشت‌پذیر ضعیف، زمانی که موجودات در یک فاصلهٔ معین از یکدیگر قرار گرفته‌اند (حداقل ثانویه).

چسبندگی اولیه غالباً در حداقل اولیه منحنی انرژی آزاد DLVO رخ می‌دهد. حداقل ثانویه معمولاً به مقادیر منفی بزرگ نمی‌رسد و ذرات جذب‌شده در این حداقل عموماً چسبندگی برگشت‌پذیری را به نمایش می‌گذارند. در این حالت، یک فاصله جداکننده بین باکتری‌های جذب‌شده وجود دارد و یک لایه نازک آب بین سطوح واکنش‌دهنده، باقی می‌ماند. اگر یک باکتری بتواند به حداقل اولیه خود برسد، نیروهای برهم‌کنش بازه کوتاه[1]، فعال می‌شوند و چسبندگی برگشت‌ناپذیر رخ می‌دهد.

چسبندگی برگشت‌ناپذیر می‌تواند به‌دلیل خصوصیات باکتریایی ویژه نظیر ساختارهای سطح باکتری یا پلیمرهای ترشح‌شده باشد. زمانی که باکتری جذب می‌شود، کلونی‌شدن آغاز می‌گردد. باکتری‌های تثبیت‌شده در شبکه ECP تقسیم می‌شوند و در نتیجه باکتری‌ها در میان ساختار بیوفیلم به دام می‌افتند. سازماندهی باکتری‌ها درون گرانول‌ها می‌تواند انتقال زیست مایه و محصولات را تسهیل نماید. آرایش باکتری‌ها درون گرانول به قدرت آبگریزی موضعی، حضور موضعی پلیمرها و هندسه میکربی بستگی دارد [۱۱].

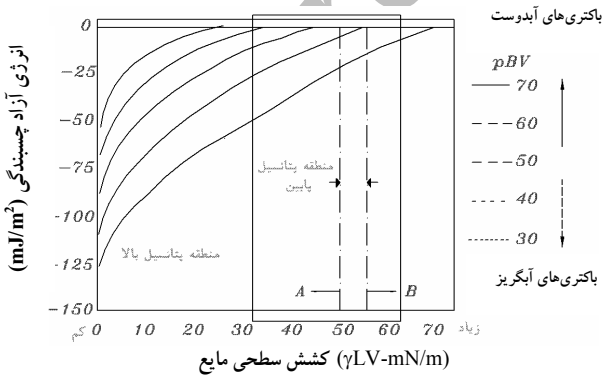
۳- مدل کشش سطحی (۱۹۹۵)

تاویسری و همکاران[2] چسبندگی باکتری‌ها در فرایند بی‌هوازی درون راکتورهای UASB را به ترمودینامیک سطح مرتبط نمودند. آن‌ها دریافتند که باکتری‌ها فقط زمانی می‌توانند بیشترین انرژی آزاد چسبندگی ممکن $\left(\Delta G_{adh}\right)$ را به‌دست آورند که کشش سطحی مایع (γ_{LV}) به‌اندازه کافی کم و یا زیاد باشد (شکل ۶). در منطقه γ_{LV} زیاد (منطقه B) باکتری‌های با انرژی سطحی کم (باکتری‌های آبگریز یا با کشش سطحی باکتریایی کم (γ_{BV})) قادر به چسبیدن و به‌دست آوردن حداقل انرژی هستند، در حالی که در منطقه γ_{LV} کم (منطقه A)، باکتری‌هایی با انرژی سطحی زیاد



شکل ۵- انرژی گیبس کلی برهم‌کنش (GT، که مجموع GA، انرژی‌های آزاد نیروهای واندروالسی و GE، انرژی آزاد برهم‌کنش الکترواستاتیکی می‌باشد)

(باکتری‌های آبدوست یا با γ_{BV} زیاد) کاهش بیشتری را در انرژی آزاد، در هنگام تجمع ارائه می‌نمایند و در نتیجه برای تشکیل تجمع‌های باکتریایی انتخاب می‌شوند. در منطقه میانی، هم تجمع سلول‌های آبگریز و هم تجمع سلول‌های آبدوست نامطلوب است (پتانسیل ΔG_{adh} کم). مشخص شده است که اکثر باکتری‌های اسیدوژن، آبدوست هستند ولی اکثر استوژن‌ها و متانوژن‌های جداشده از لجن گرانوله، آبگریز می‌باشند. بنابراین عملکرد سیستم در γ_{LV} بالا برای تجمع باکتری‌های آبگریز و در γ_{LV} پایین برای تجمع باکتری‌های آبدوست مطلوب است [۱۲].



شکل ۶- انرژی‌های آزاد چسبندگی (ΔG_{adh}) برای باکتری‌هایی با مقادیر مختلف γ_{BV} به عنوان تابعی از γ_{LV} تئوری جابجایی پروتون- آب‌زدایی (۲۰۰۰) [۱۲]

[1] Short- range interaction
[2] Thaveesri et al.

Archive of SID
www.SID.ir

تـای و همکـاران[1] ایـن تئـوری را بـرای مکانیـسم مولکـولی گرانولاسیون لجن برمبنای فعالیت انتقال پروتون در سطوح غـشای باکتریایی، پیشنهاد نمودند [۱۳]. در ایـن تئـوری، پیـشرفت فراینـد گرانولاسیون در چهار مرحله به‌صورت زیر مورد بررسی قرار گرفتـه است:

۱- آب‌زدایی سـطوح باکتریـایی: بـرهم‌کـنش آبگریـز بـین سـطوح باکتریایی، به‌منظـور آغـاز چـسبندگی باکتریـایی لازم اسـت. تحـت شرایط فیزیولوژیکی طبیعی، یک سطح باکتریایی بار منفـی زیـادی دارد که برقراری پیونـد هیـدروژنی بـا مولکـول‌هـای آب را تـسهیل مـی‌نمایـد و منجربـه تـشکیل شـبکه‌ای از آب در اطـراف سـطوح باکتریایی می‌گردد که به لایـه هیدراسـیون[2] معـروف اسـت. بـا ایـن وجود نیروی دافعه هیدراسیون، معمـولاً مرحلـه آغـازین چـسبندگی برگشت‌پذیر باکتریایی را به‌مقدار قابل ملاحظه‌ای تحت تـأثیر قـرار نمی‌دهد. باکتری‌های اسیدوژن در هنگام اسیدی‌شدن زیست تـوده ، پروتون‌ها را از طرف سیتوپلاسمی غشا به سطح خـارجی آن انتقـال می‌دهند. این فعالیـت انتقـال پروتـون، بـه سـطح انـرژی مـی‌دهـد و موجب شکسته‌شدن پیوندهای هیدروژنی بین گروههای با بـار منفـی و مولکول‌های آب می‌شود. بنابراین یک خنثی‌سازی جزئی بارهـای منفی بر روی سطوح باکتریایی رخ مـی‌دهـد کـه موجـب آب‌زدایـی سطوح میکربی می‌گردد.

۲- تـشکیل گرانـول‌هـای اولیـه[3]: ممکـن اسـت درنتیجـهٔ فـشار هیدرولیکی جریان رو به بالا، طبیعـت آبگریـز بـاکتری‌هـا و نیـروی دافعه هیدراسیون تضعیف شده، اسیدوژن و متانوژن‌هـا بـه یکـدیگر چسبیده و گرانول‌های اولیه را تشکیل دهنـد. عـلاوه بـراین بـه‌علـت انتقال محصولات ناشی از سوخت‌وساز بـین بـاکتری‌هـا، آب‌زدایـی بیـشتری در سـطوح باکتریـایی رخ مـی‌دهـد و منجـر بـه تقویـت گرانول‌های اولیه می‌شود. در این مرحله توسعه، محیط فیزیولوژیکی جدید سبب آغاز ترشح ECP در سطوح گرانول اولیه می‌شود.

۳- بلـوغ گرانـول‌هـا[4]: در ایـن مرحلـه، کلـونی‌هـای باکتریـایی تشکیل‌شده، رشد خود را ادامه می‌دهند و باکتری‌های پراکنده نیـز بـه گرانـول‌هـای اولیـه مـی‌چـسبند. انتقـال محـصولات میـانی، توزیـع کلونی‌های ریز را درون گرانـول معـین مـی‌کنـد و سـرانجام موجـب تجمع‌های باکتریایی با ساختار مناسب به‌صـورت گرانـول‌هـای بـالغ می‌گردد. علاوه‌براین مقدار زیاد ECP تولیدشده موجب هیدراسـیون سطوح گرانوله می‌شود و گرانـول‌هـا را دربرابـر تـنش‌هـای برشـی و اتصال به حبابهای گاز کـه سـبب ازبـین‌رفـتن زیـست‌تـوده ازطریـق شناورشدن می‌شود، محافظت مـی‌نمایـد. علـت ایـن امـر آبدوسـتی بسیار زیاد ECP و آبگریزی شدید حبابهای بیوگاز است.

۴- بلوغ تکمیلی[5]: در این مرحله فعالیت جابجایی پروتـون، سـطوح باکتریایی را در حالت نسبتاً آبگریزی نگاه می‌دارد و مـسئول اصـلی حفاظت و نگهداری ساختار گرانول‌های بالغ اسـت. از سـوی دیگـر، لایهٔ ECP در خارج گرانول موجب هیدراسیون سطح گرانول شده و از گرانول در برابر اتصال به حبابهای گاز و تنش برشی درون راکتور UASB محافظت می‌نماید [۱۳].

۴- نتیجه‌گیری

اکثر تئوری‌های ارائه‌شده در مـورد گرانـول‌سـازی بـر ایـن موضـوع تأکید می‌کنند که باکتری استوتروفیک و متانوژن *متانوثریکس* نقش کلیدی در فرایند گرانوله شدن لجن ایفا می‌نماید. برخی معتقدنـد کـه باکتری *متانوسارسینا* تشکیل گرانول را بهبود می‌بخشد. توافق قابـل ملاحظه‌ای برروی این مطلب وجود دارد که مرحله آغـازین گرانولـه شـدن، اتـصال و چـسبندگی باکتریـایی (یـک فراینـد فیزیکـی- شیمیایی) است که بـه مـوازات اوایـل مرحلـه تـشکیل زیـست لایـه صورت می‌پذیرد. باکتری‌ها فاقد یک مرز سطحی مشخص و دقیـق، هندسـه سـاده یـا ترکیـب سـطح مولکـولی یکنواخـت مـی‌باشـند. در حقیقت، واکنش‌های شیمیایی داخلی منجـر بـه تغییـرات در ترکیـب مولکولی، هم در داخل و هم در سطح می‌گردند. به هر حـال، توضـیح تمام جنبه‌های پیچیده چسبندگی باکتریایی تنها بـا پـرداختن بـه ایـن پدیده به‌عنوان یک فرایند شیمی- فیزیکی محدود می‌شود.

ECP نقـش مهمـی در فراینـد گرانولـه شـدن دارد و بـه‌عنـوان منعقدکننـده مولکـولی نقـش یـک عامـل تحریـک‌کننـده بـرای گرانولاسیون بی‌هوازی را ایفا می‌نماید. همچنین زمان گرانولاسیون و رفتار چسبندگی ذرات لجن بـه شـرایط موجـود در راکتـور و نـوع رشد مایه بستگی دارد. اگرچه اکثر توجهات در تئـوری‌هـای گرانولـه شدن به سمت شرایطی می‌رود که بر اتـصال و چـسبندگی باکتریـایی تأثیر می‌گـذارد، هنـوز هـم شستـشو و خـارج کـردن گزینـشی لجـن پراکنده از درون راکتور که درنتیجه آن رشد توده‌های لجن حفظ‌شده (سنگین‌تر) افزایش می‌یابـد، بـرای فراینـد گرانولـه شـدن ضـرورت بیشتری دارد. به ایـن منظـور، حـضور ذرات بـی‌اثـر کـه بـاکتری‌هـا بتوانند بر روی سطح آن‌ها بچسبند، کاملاً مفید است. بـا ایـن وجـود ذرات باید قابلیت ته‌نشینی خوبی داشته باشند، در غیر ایـن صـورت شستشو و فرار لجن به‌صورت ناخواسته رخ می‌دهد.

[1] Tay et al.
[2] Hydration Layer
[3] Embryonic granules
[4] Granule maturation
[5] Post- maturation

Archive of SID
www.SID.ir

۵- مراجع

1- Hulshoff Pol, L.W., De Zeeuw, W.J., Velzeboer, C.T.M., and Lettinga, G. (1983). "Granulation in UASB reactors." *Water Sci. Technol*., 15(8-9), 291-304.

2- Pereboom, J.H.F. (1994). "Size distribution model for methanogenic granules from full scale UASB and IC reactors." *Water Sci. Technol*., 30(12),211-221.

3- Dolfing, J. (1987). "Microbiological aspects of granular methanogenic sludge." Ph.D. Thesis, Agricultural University Wageningen, Netherlands.

4- Sam-Soon, P., Loewenthal, R.E., Dold, P.L., and Marais, G.V.R. (1987). "Hypothesis for pelletisation in the upflow anaerobic sludge bed reactor ." *Water S. A*., 13(2), 69-80.

5- Wiegant, W. M. (1987). "The spaghetti theory on anaerobic sludge formation, or the inevitability of granulation." In: Lettinga, G., Zehnder, A.J.B., Grotenhuis, J. T.C., and Hulshoff Pol, L. W (Eds.) *Granular anaerobic sludge: Microbiology and technology*, Pudoc. Wageningen, Netherlands.

6- Chen, J., and Lun, S.Y. (1993). "Study on mechanism of anaerobic sludge granulation in UASB reactors." *Water Sci. Technol*., 28(7),171-178.

7- Dubourgier, H.C., Prensier, G., and Albagnac, G. (1987). "Structure and microbial activities of granular anaerobic sludge." In: Lettinga, G., Zehnder, A.J.B., Grotenhuis, J. T .C., and Hulshoff Pol, L. W. (Eds.) *Granular anaerobic sludge: Microbiology and technology*, Pudoc. Wageningen, Netherlands.

8- Morgan, J. W., Evison, L.M., and Forster, C.F. (1991). "Internal architecture of anaerobic sludge granules." *J. Chem. Technol. Biotechnol*., 50, 211-226.

9- De Zeeuw, W.J. (1987). "Granular sludge in UASB reactors." In: Lettinga, G., Zehnder, A.J.B., Grotenhuis, J. T.C., and Hulshoff Pol, L. (Eds.) *Granular anaerobic sludge: Microbiology and technology*, Pudoc. Wageningen, Netherlands.

10- McLeod, F.A., Guiot, S.R., and Costerton, J. W. (1990) "Layered structure of bacterial aggregates produced in an upflow anaerobic sludge bed and filter reactor." *Appl. Environ. Microbiol*., 56(6),1598-1607.

11- Schmidt, J.E., and Ahring, B.K. (1996). "Review: Granular sludge formation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors." *Biotechnol. Bioeng*., 49, 229-246.

12- Thaveesri, J., Daffonchio, D., Liessens, B., Vandermeren, P., and Verstraete, W. (1995). "Granulation and sludge bed stability in upflow anaerobic sludge bed reactors in relation to surface thermodynamics." *Appl. Environ. Microbiol*., 61(10),3681-3686.

13- Tay, J.H., Xu, H.L., and Too, K.C. (2000). "Molecular mechanism of granulation. I: W translocation-dehydration theory." *J. Environ. Eng*., 126,403-410.

14- Hulshoff Pol, L. W., de Castro Lopes, S. I., Lettinga, G., and Lens, P.N.L. (2004). "Anaerobic sludge granulation." *Water Research*, 38, 1376-1389.

15- Zhou, E., Imai, T., Ukita, M., Li, F., and Yuasa, A. (2007). "Effect of loading rate on the granulation process and granular activity in a bench scale UASB reactor." *Bioresource Technology*, 98 (7), 1386-1392.

16- Randall, A. W., and Richard, R. D. (1997). "Laboratory studies on enhancement of granulation in the anaerobic sequencing batch reactor." *Water Sci. Technol., 36* (4), 279-286.

Archive of SID

www.SID.ir