

Removal of Phenolic Compounds from Olive Oil Mill Wastewater using *Ralstonia eutropha* in an Airlift Bioreactor with Internal Net Draft Tube

A. Amani¹, E. Jalilnejad², M. Sirousazar³

1. MSc of Chemical Engineering, Urmia University of Tech., Urmia, Iran
2. Assist. Prof., Department of Chemical Engineering, Urmia University of Tech., Urmia, Iran
(Corresponding Author) e.jalilnejad@uut.ac.ir
3. Assoc. Prof., Department of Chemical Engineering, Urmia University of Tech., Urmia, Iran

(Received Jan. 4, 2017 Accepted Sep. 24, 2017)

To cite this article :

Amani, A., Jalilnejad, E., Sirousazar, M., 2018, "Biodegradation of olive oil mill wastewater using *ralstonia eutropha* in an airlift bioreactor with internal net draft tube." *Journal of Water and Wastewater*, 29 (4), 75-87.
Doi: 10.22093/wwj.2017.71957.2317 (In Persian)

Abstract

Aromatic compounds such as total phenolic (TP) compounds commonly present in effluents of food and agricultural industries such as Olive mill wastewater (OMW). The high concentration of TP in OMW is usually associated with high measurement of chemical oxygen demand (COD). Discharge of these chemicals to water ways can create hazardous environmental conditions and have an adverse impact on living organisms. Biological treatment is the most effective method for removing or partially decreasing these chemicals from wastewater. In this study, the biodegradation of OMW was investigated by using an airlift bioreactor with *Ralstonia eutropha* equipped with net draft tube (ALR-NDT). The effect of aeration rate and initial TP concentration on the efficiency of the biodegradation process was studied. Initially, the effect of three aeration rates (100, 200, and 400 mL/min) on TP reduction was studied. The aeration rate of 200 mL/min was found to be the optimal aeration rate for the biodegradation process. Following these initial experiments, the effect of the three initial OMW concentrations (660, 1220, and 2620 mg/L) were evaluated on TP reduction in the follow-up experiments. Results of our study showed that the TP reduction under the above three initial OMW concentrations was 95%, 96%, and 58%, respectively. The maximum TP reduction (96%) was accomplished when the initial TP concentration was 1220 mg/L. For future kinetic modeling investigation, we were able to use the experimental data and confirmed the behavior of the process as a Monod kinetic model with kinetic coefficients of $\mu_{max} = 0.22$ 1/hr and $K_s = 863$ mg/L. According to our preliminary results, *Ralstonia eutropha* was found to be capable of degrading high concentrations of phenolic compounds from industrial wastewater.

Keywords: Olive Mill Wastewater, *Ralstonia Eutropha*, Airlift Reactor, Net Draft Tube, Phenolic Compounds, Biodegradation.



تخریب زیستی پساب کارخانه روغن زیتون با باکتری *رالستونیا یوتروفا* در بیوراکتور هواراند با لوله مشبک داخلی

افشین امانی^۱، الهام جلیل نژاد^۲، محمد سیروس آذر^۳

۱- کارشناسی ارشد مهندسی شیمی، گروه مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی ارومیه، ارومیه، ایران

۲- استادیار، گروه مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی ارومیه، ارومیه، ایران

(نویسنده مسئول) e.jalilnejad@uut.ac.ir

۳- دانشیار، گروه مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی ارومیه، ارومیه، ایران

(دریافت ۹۵/۱۰/۱۵ پذیرش ۹۶/۷/۲)

برای ارجاع به این مقاله به صورت زیر اقدام بفرمایید:

امانی، ا.، جلیل نژاد، ا.، سیروس آذر، م.، ۱۳۹۷، "تخریب زیستی پساب کارخانه روغن زیتون با باکتری *رالستونیا یوتروفا* در بیوراکتور هواراند با لوله مشبک داخلی" مجله آب و فاضلاب، ۲۹ (۴)، ۸۷-۷۵. Doi: 10.22093/wwj.2017.71957.2317

چکیده

مواد فنلی (TP) از جمله ترکیبات آروماتیک در پساب صنایع مختلف می‌باشند که به‌عنوان آلاینده‌های سمی محیط زیست و مقاوم در برابر شکست شناخته شده‌اند. پساب کارخانه روغن‌گیری از دانه‌های زیتون حاوی مقدار زیادی مواد فنلی و COD است و تخلیه آن به ابهای سطحی و عدم تیمار مناسب آن صدمات جبران‌ناپذیری در محیط‌زیست بیار می‌آورد. در این پژوهش روش تجزیه زیستی به‌دلیل مزایایی همچون سازگاری با محیط زیست، هزینه اولیه و عملیاتی کم و بازدهی زیاد در تیمار پساب‌های کشاورزی و صنعتی مورد استفاده قرار گرفت. فرایند تجزیه زیستی پساب کارخانه روغن‌گیری از زیتون توسط باکتری *رالستونیا یوتروفا* در بیوراکتور هواراند با لوله داخلی مشبک (ALR-NDT) بررسی شد و اثر میزان هوادهی و غلظت اولیه پساب بر بازدهی حذف مواد فنلی و COD بررسی شد. ابتدا تأثیر میزان هوادهی در شرایط ناپیوسته در کاهش TP مورد بررسی قرار گرفت و بر اساس نتایج آزمایش، نرخ هوادهی ۲۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه به‌عنوان نرخ بهینه هوادهی در شرایط محیط هوازای انتخاب شد. سپس تأثیر غلظت اولیه OMW در سه مقدار ۶۶۰، ۱۲۲۰ و ۲۶۲۰ میلی‌گرم در لیتر بر کاهش مقدار TP و COD بررسی شد و به‌ترتیب میزان ۹۵، ۹۶ و ۵۸ درصد کاهش TP برای سه غلظت بالا مشاهده شد. بیشینه میزان کاهش TP و COD برابر ۹۶ و ۴۵ درصد و مربوط به غلظت اولیه ۱۲۲۰ میلی‌گرم در لیتر بود که این بازدهی نشانگر کارایی مناسب راکتور زیستی و باکتری هوازای سازگار شده در تخریب زیستی این پساب واقعی است. با انجام مطالعات سینتیکی، مدل مونود با ضرایب سینتیکی ۰/۲۲ $\mu_{max} = 863 \text{ mg.L}^{-1}$ و K_s با تطبیق قابل قبول با داده‌های تجربی، به‌عنوان مدل سینتیکی تخریب OMW مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به نتایج، باکتری *رالستونیا یوتروفا* کارایی مناسبی در مصرف مواد فنلی در غلظت زیاد دارد و راکتور زیستی هواراند با لوله مشبک داخلی با غلبه بر محدودیت‌های انتقال جرمی نقش اساسی در فرایند ایفا می‌کند.

واژه‌های کلیدی: پساب کارخانه روغن‌گیری از دانه زیتون، باکتری *رالستونیا یوتروفا*، راکتور هواراند، لوله داخلی مشبک، ترکیبات فنلی، تخریب زیستی

۱- مقدمه

به‌همراه داشته است. صنعت روغن‌گیری^۱ از دانه‌های زیتون یکی از این فرایندهای مهم است که مشخصات شیمیایی پساب آن نسبت به عواملی نظیر روش جداسازی، نوع زیتون، ناحیه کشت زیتون و

افزایش روز افزون تولیدات صنعتی، از جمله صنایع غذایی با تولید مقدار قابل توجه پساب که در آن مولکول‌های مقاوم و ترکیبات تخریب‌ناپذیر زیستی حضور دارد، مشکلات زیستی فراوانی را

¹ Olive Mill Wastewater (OMW)



ساختار غیر اسپوری است که با رشد خود، کلونی‌های سفید رنگی را تشکیل می‌دهد. این باکتری در آب و خاک موجود است (Ranjbar et al., 2016). رالستونیا یوتروفا پتانسیل زیادی برای استفاده در فرایندهای تیمار پساب به منظور حذف آلاینده‌های مختلف دارد و استفاده از آن برای حذف ترکیبات مختلف آروماتیک و آلاینده‌های شیمیایی در پژوهش‌های زیادی مورد بررسی قرار گرفته است که از آن جمله می‌توان به تجزیه زیستی ترکیبات فنلی در غلظت زیاد، پارانیتروفنول، ترکیبات نیتروآروماتیکی و ترکیبات کلروفنلی اشاره نمود (Jalilnejad et al., 2011, Nickzad et al., 2012, Ranjbar et al., 2016, Samanta et al., 2000, Marvin Sikkema and De Bont, 1994).

همچنین توانایی این باکتری در تولید پلی هیدروکسی آلکانوات‌ها به عنوان پلاستیک‌های زیستی قابل تجزیه و سازگار با محیط زیست با استفاده از مواد اولیه و پساب‌ها از جمله قابلیت‌های رالستونیا یوتروفا است (Chareles et al., 2011, Riedel et al., 2015).

راکتور زیستی از لحاظ مهیا کردن محیط کشت مناسب و انتقال جرم (مواد مغذی و اکسیژن) کافی به ریزاندام‌ها نقش اساسی در فرایندهای زیستی ایفا می‌کند. در میان راکتورهای استفاده شده در پژوهش‌های مختلف برای تیمار پساب، راکتور زیستی هواراند به دلیل دارا بودن طراحی ساده، مصرف انرژی کم، مقدار اندک تنش برشی، مهیا کردن محیط کشت مناسب و اختلاط کامل بسیار مورد توجه است. خصوصیات فیزیکی این راکتور زیستی از جمله مکان قرار گرفتن اسپارجر گاز، طراحی داخلی، سایز راکتور و نوع لوله داخلی آن نقش عمده‌ای در ایجاد شرایط بهتر و رسیدن اکسیژن کافی به ریزاندام در تمام نقاط راکتور دارد (Gunay and Cetin, 2013, Marvin Sikkema and De Bont, 1994, Nickza et al., 2012, Samanta et al., 2000).

در پژوهش‌های گذشته، چیاولا و همکاران تجزیه زیستی OMW را در چند راکتور ناپیوسته غشایی که به صورت سری قرار گرفته بودند، مورد بررسی قرار داده‌اند که در نهایت با مطالعه تأثیر پارامترهای عملیاتی مختلف، مقدار قابل توجهی از COD کاهش یافته است. در مرحله اول مقدار ۹۰ و ۶۰ درصد کاهش COD و TP مشاهده شد، ولی در مراحل بعدی با اضافه کردن مواد مغذی به

شرایط اقلیمی متغیر است (Ahmadi et al., 2006, Jalilnejad et al., 2011, Ranjbar et al., 2016, Cerrone et al., 2011). پساب خروجی از فرایند روغن‌گیری از دانه زیتون با میزان COD بین ۴۵ تا ۲۵۰ گرم در لیتر و BOD در محدوده ۲۰ تا ۱۵۰ گرم در لیتر یکی از آلوده‌ترین پساب‌های صنعتی است. شامل مقادیر زیادی لیگنین و تانین است که باعث رنگ تیره پساب می‌شوند. همچنین مقدار زیاد ترکیبات فنلی^۱ و زنجیره‌های طولانی اسیدهای چرب در این نوع پساب، برای ریزاندام‌ها و محیط زیست مضر و سمی است. میزان مواد فنلی در OMW در بازه ۰/۵ تا ۲۴ گرم در لیتر متغیر است که تصفیه آن را به فرایندی مشکل تبدیل می‌کند (Qodah et al., 2015, Chiavolah et al., 2014). با وجود این که مقدار ترکیبات فنلی حدود ۳ درصد کل مواد آلی را تشکیل می‌دهد، ولی بیشترین میزان سمیت پساب مربوط به وجود حلقه‌های فنلی است و همچنین این حلقه‌های فنلی در برابر تخریب زیستی از خود مقاومت نشان می‌دهند.

فرایندهای فیزیکی و شیمیایی متعددی به منظور کاهش بار آلاینده‌های این نوع پساب به کار برده شده‌اند. از جمله مشکلات این فرایندها، تولید مواد واسطه در حین تصفیه، میزان کم کاهش بار آلاینده‌ها و هزینه‌های اولیه و عملیاتی زیاد است. فرایندهای بیولوژیکی برای تصفیه پساب به علت دوست‌دار محیط زیست بودن، به صرفه بودن از نظر اقتصادی و میزان کاهش قابل توجه بار آلاینده، کاربردهای گسترده‌ای پیدا کرده است. تعداد زیادی از راکتورهای زیستی هوازی و بی‌هوازی برای تصفیه OMW به کار برده شده است. روش بی‌هوازی بیوگازهایی مانند متان و هیدروژن برای ذخیره سازی انرژی تولید می‌کنند، اما وجود مواد فنلی سمی ممکن است باعث جلوگیری از تأثیر بهینه آنزیم‌های متان‌زا و هیدروژن‌زا در فرایندهای بی‌هوازی شوند و بازدهی فرایند را تحت تأثیر قرار دهند (Amor et al., 2015, Daassi et al., 2015, Marquez et al., 2014). فرایندهای تخریب زیستی با استفاده از باکتری‌های هوازی که به مقدار قابل توجهی توانایی رشد در محیط‌های حاوی مواد سمی با بار آلاینده‌های زیاد نظیر مواد فنلی را دارند، در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته‌اند (Gunay and Cetin, 2013).

باکتری هوازی رالستونیا یوتروفا یک باکتری گرم منفی با

¹ Total Phenolics (TP)



جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی پساب کارخانه روغن‌گیری از دانه زیتون

Table 1. Chemical and physical characteristics of OMW

Parameter	Unit	Value
pH	-	4.9
TP	g/L	2.7
COD	g/L	89.5
BOD	g/L	25.2
TSS	g/L	2.7

پلاستیکی ۵۰۰ میلی‌لیتری منتقل و در فریزر در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. طبق پژوهش ولیساید و همکاران در صورتی که نسبت $4 < \text{COD/BOD} < 2$ باشد از فرایند هوازی می‌توان برای تخریب زیستی فرایند استفاده نمود. در این پژوهش این نسبت برابر $3/55$ بود که قابلیت استفاده از میکرب هوازی را برای تیمار OMW تأیید می‌نماید (Vlyssides et al., 1999).

۲-۲- باکتری و محیط کشت

باکتری مورد استفاده در این پژوهش، باکتری گرم منفی *رالستونیا یوتروفا* (*Ralstonia eutropha* PTCC ۱۶۱۵) بود که از مجموعه گونه‌های میکربی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران در شرایط لیوفیلیزه خریداری شد. ترکیب محیط کشت^۲ PTCC مورد نیاز برای رشد این ریزجاندار به صورت: $1 \text{ K}_2\text{HPO}_4$ گرم در لیتر، $1 \text{ KH}_2\text{PO}_4$ گرم در لیتر، $1 \text{ (NH}_4)_2\text{SO}_4$ گرم در لیتر، $0.5 \text{ 7H}_2\text{O}$ گرم در لیتر و گلوکز ۳ گرم در لیتر، (منبع کربن) است. استریلیزاسیون این محیط با قرار دادن آن در اتوکلاو به مدت ۲۰ دقیقه و در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس صورت گرفت. باکتری *رالستونیا یوتروفا* به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس و سرعت ۱۵۰ دور بر دقیقه در شیکر انکوباتور برای رشد اولیه قرار داده شد.

۲-۳- فرایند سازگاری میکرب

باکتری رشد داده شده در محیط کشت در پژوهش‌های قبلی با فنل سازگار شده بود (Nickzad et al., 2012). به منظور سازگاری بیشتر این باکتری با پساب واقعی، مرحله سازگارسازی آن با

محیط کشت باکتری، میزان حذف COD و TP تا میزان ۹۲ درصد و ۷۸ درصد افزایش یافت (Chiavola et al., 2014).

عملکرد راکتورهای سری به کار رفته در این پژوهش، کاربرد موفقیت‌آمیز راکتورهای غشایی در فرایند بی‌هوازی تخریب زیستی OMW را نشان می‌دهد که البته لازم است پژوهش‌های بیشتری در راستای مقایسه عملکرد یک راکتور با چند راکتور به کار رفته در این فرایند از لحاظ اقتصادی و همچنین مطالعات گرفتگی و رسوب در راکتورهای غشایی نیز انجام شود. مارکز و همکاران قدرت تخریب میکروجلبک^۱ بر روی پساب رقیق شده OMW و تأثیر غلظت اولیه پساب بر توانایی این جلبک را مورد بررسی قرار دادند و در نهایت حذف TP معادل ۹۹ درصد را کاهش گزارش کردند (Marquez et al., 2014).

در پژوهش دیگری با استفاده از سه باکتری گرمادوست در شرایط بهینه برای رشد باکتری‌ها (دمای 65°C و pH برابر $6/4$) تیمار پساب OMW مورد بررسی قرار گرفته و سینتیک‌های مختلفی برای رشد باکتری بررسی شده است که در نتیجه توانایی رشد باکتری در پساب OMW، سینتیک مونود با داده‌های آزمایشگاهی مطابقت داده شده است (Qodah et al., 2015).

در این پژوهش، کاربرد راکتور اصلاح شده هواراند با لوله داخلی مشبک و باکتری *رالستونیا یوتروفا* که در مراحل اولیه با فنل و سپس با OMW سازگار شد، در تیمار زیستی پساب واقعی OMW بررسی شد. با توجه به اهمیت هوادهی در فرایندهای هوازی، میزان هوادهی بر مقدار کاهش TP ارزیابی شد و سپس با استفاده از نرخ هوادهی بهینه، تأثیر غلظت اولیه پساب مورد نظر بر مقدار حذف TP و COD در غلظت‌های مختلف پساب مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- OMW

پساب مصرفی مورد استفاده در این پژوهش از کارخانه روغن زیتون گلستان در منجیل گیلان تهیه شد. در این واحد صنعتی، فرایند روغن‌گیری از میوه زیتون به روش سانتریفیوژ سه فازی انجام می‌شود. مشخصات این پساب در جدول ۱ نشان داده شده است. پساب در مدت زمان کمتر از ۲۰ ساعت به آزمایشگاه منتقل شد. سپس توسط یک صافی پارچه‌ای، صاف شد و به ظروف

² Persian Type Culture Collection

¹ Microalgal



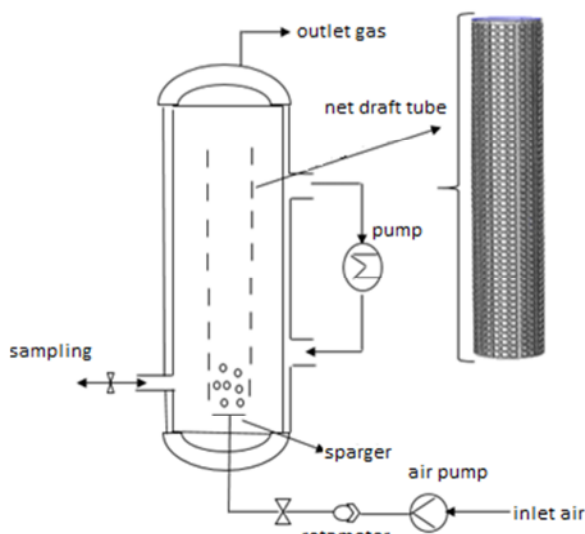


Fig. 1. Schematic of airlift bioreactor with net draft tube

شکل ۱- نمایی از راکتور زیستی هواراند با لوله داخلی مشبک

شد.

۲-۵- روش‌های سنجش

برای سنجش غلظت مواد فنلی در OMW از روش رنگ‌سنجی فولین-سیوکتی استفاده شد (Gunay and Cetin, 2013). این روش بر اساس تولید کمپلکس رنگی با کاهش اکسیدهای فلزی موجود در معرف فولین-سیوکتی در محلول حاوی ترکیبات فنلی است که منجر به تولید رنگ آبی متمایل به طوسی در نمونه‌ها می‌شود که این رنگ با افزایش غلظت OMW تیره‌تر می‌شود و جذب نوری بالاتری را در طول موج ۷۵۰ نانومتر ایجاد می‌کند. در نتیجه می‌توان با رسم یک منحنی استاندارد، رابطه بین غلظت OMW و جذب نوری را به دست آورد. مراحل سنجش به این ترتیب است: برای به دست آوردن جذب نوری هریک از غلظت‌های OMW، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱ میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکتی به ۱ میلی‌لیتر نمونه حاوی OMW اضافه شد. پس از هم‌زدن کامل این محلول و بعد از گذشت زمان ۵ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات (۲۰۰ گرم در لیتر) افزوده شد و بار دیگر همگن‌سازی انجام گرفت. پس از این مرحله محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت و سپس جذب هریک از نمونه‌های حاوی غلظت‌های مختلف OMW در طول موج ۷۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و توسط منحنی کالیبراسیون به غلظت مواد فنلی تبدیل شد.

OMW به این ترتیب انجام گرفت: ابتدا OMW در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و در مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو استریل شد. این استریل‌سازی به منظور ارزیابی عملکرد باکتری *رالستونیا یوتروفاس* به عنوان تنها باکتری مورد آزمایش در این پژوهش انجام گرفت که در صورت موفقیت آزمایش‌ها می‌توان آن را به عنوان باکتری دارای قابلیت حذف مواد فنلی در غلظت‌های زیاد برای تیمار پساب‌های مختلف و قابل افزایش به مخلوط‌های میکربی معرفی نمود. در مرحله بعدی میکرب سازگار شده با فنل به نسبت حجمی ۱۰ درصد به پساب واقعی چهار برابر رقیق شده با آب مقطر (۶۴۰ میلی‌گرم در لیتر) انتقال یافت و به منظور رشد، به مدت ۷۰ ساعت در شیکر انکوباتور در دمای ۳۰ درجه سلسیوس و سرعت ۱۵۰ دور بر دقیقه قرار داده شد. در مرحله بعدی ۱۰ درصد حجمی از این مایع تلقیح شده به پساب دو برابر رقیق شده (۱۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) اضافه شد و با تکرار همین مراحل به پساب رقیق نشده (۲۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر) تلقیح شد. باکتری رشد یافته در این مرحله نهایی به عنوان میکرب سازگار شده برای استفاده در آزمایش‌های اصلی در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد.

۲-۴- ساختمان و عملکرد راکتور هواراند با لوله داخلی

مشبک (ALR-NDT)^۱

راکتور زیستی هواراند با لوله داخلی مشبک مورد استفاده در این پژوهش که در شکل ۱ نمایش داده شده است از یک ستون استوانه‌ای شیشه‌ای با ارتفاع ۴۲ سانتی‌متر و قطر داخلی ۵ سانتی‌متر و حجم کاری ۵۴۰ میلی‌لیتر که لوله مشبک داخلی در مرکز آن و ۱۰ سانتی‌متر بالاتر از قسمت پایین راکتور قرار گرفته بود تشکیل شده است. این لوله داخلی از جنس فولاد ضدزنگ با مش ۱۲ و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر و قطر داخلی ۱/۵ سانتی‌متر است. برای تنظیم دما جداره خارجی این راکتور زیستی به یک حمام آب گردشی^۲ متصل شد که دما را در ۳۰ درجه سلسیوس ثابت نگه می‌داشت. پخش هوا از طریق یک اسپارجر شیشه‌ای، با ده سوراخ ریز با قطر ۰/۱ میلی‌متر در پایین بخش بالارونده، انجام گرفت تا هوا از طریق پمپ آکواریومی با دبی‌های مختلف وارد راکتور شود. برای تنظیم دبی هوای ورودی توسط پمپ هوا از روماتر استفاده

^۱ Airlift Reactor With Net Draft Tube (ALR-NDT)

^۲ Water Bath Circulator



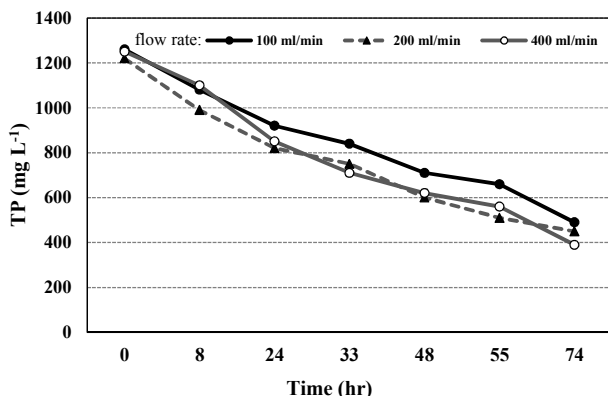


Fig. 2. Reduction in TP concentration vs. time for initial TP concentration of 1220 mg/l under three different air flow rates ($T=30^{\circ}\text{C}$)

شکل ۲- تأثیر نرخ دبی هوای ورودی بر میزان حذف مواد فنلی در غلظت اولیه ۱۲۲۰ میلی‌گرم در لیتر از مواد فنلی (دمای 30°C)

در شکل ۲ نشان داده شده است. میزان اولیه اکسیژن محلول در محیط OMW در دمای آزمایشی 30°C درجه سلسیوس (بهینه دمای رشد باکتری) برای سه نرخ هوادهی مورد آزمایش در بازه $6/7$ تا 7 میلی‌گرم در لیتر بود. در دبی 100 میلی‌لیتر بر دقیقه میزان TP در مدت زمان 82 ساعت از 1260 میلی‌گرم در لیتر به مقدار 460 میلی‌گرم در لیتر رسید و کاهش محسوسی را نشان داد. در ادامه آزمایش، میزان دبی 200 میلی‌لیتر بر دقیقه بررسی شد که در همان مدت زمان و غلظت اولیه ثابت، مقدار TP به 400 میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت. در مرحله آخر دبی 400 میلی‌لیتر بر دقیقه در همان شرایط قبلی مورد آزمایش قرار گرفت که مقدار کاهش TP تا میزان 370 میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. همانطور که از نتایج مشخص است، با افزایش میزان دبی هوا، مقدار TP کاهش بیشتری پیدا کرده است، زیرا با افزایش نرخ هوادهی میزان اختلاط بیشتر شده و گردش مایع را تسهیل می‌کند و در مدت زمان کمتری اکسیژن در دسترس باکتری قرار می‌گیرد و با رشد بیشتر باکتری میزان آنزیم فنل هیدروکسیلاز بیشتر و سریع‌تر تولید می‌شود و موجب شکست حلقه آروماتیکی می‌شود. این اثر مثبت افزایش دبی هوا تا زمانی که اکسیژن محدود کننده باشد، مؤثر است ولی با از بین رفتن محدودیت دسترسی اکسیژن و تأمین اکسیژن و مواد مغذی محیط کشت به میزان کافی و ایجاد اختلاط کامل در راکتور، افزایش بیشتر دبی تأثیر محسوسی در بازدهی فرایند تیمار نخواهد داشت که این تفاسیر با نتایج شکل ۲ مطابقت دارد. همانطور که

برای سنجش COD، ویال‌های آماده از شرکت Merck خریداری شد. حجم مشخصی از پساب به داخل این ویال‌های مخصوص سنجش ریخته شد و پس از هم‌زدن، به مدت دو ساعت در دمای 148 درجه سلسیوس در راکتور حرارتی ویژه سنجش COD به منظور هضم مواد آلی موجود در نمونه حرارت داده شد. سپس ویال‌ها تا دمای اتاق خنک شد و جذب این محلول‌ها به منظور سنجش مقدار COD توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 605 اندازه‌گیری شد (APHA, 1998, Alilnejad et al., 2011)

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی تأثیر نرخ هوادهی

غلظت اکسیژن در پساب یکی از پارامترهای مهم است که عامل محدود کننده در سینتیک فرایندهای زیستی هوازی را مشخص می‌کند. فرایند میکربی شامل چندین مرحله به منظور انتقال اکسیژن از هوا و در دسترس گرفتن آن برای سلول‌های باکتری است. مقاومت در مقابل انتقال اکسیژن از حباب‌های هوا شروع می‌شود و به مایع درون راکتور می‌رسد و سوبسترای حاوی TP را هیدروکسیله می‌کند که این مرحله اولین مرحله از شکست حلقه TP تحت شرایط هوازی است. از آنجا که امکان تشکیل حباب‌های ریز هوا در راکتور اصلاح شده ALR-NDT به دلیل حضور لوله مشبک مرکزی زیاد است و حباب‌های کوچک شانس بیشتری برای پراکنده شدن منظم در فاز مایع دارند، در این راکتور حباب‌ها به صورت منظم و اندازه ریز در مقایسه با راکتورهای دیگر در کل ستون پخش می‌شوند. تشکیل حباب‌های ریز از نتایج خاصیت ممانعت از به هم پیوستگی حباب‌ها در این راکتور است که منجر به افزایش سطح تماس گاز-مایع می‌شود. اهمیت حضور اکسیژن به میزان کافی به دلیل ضرورت حضور و فعالیت آنزیم فنل هیدروکسیلاز مربوط به باکتری رالستونیا یوتروفا برای تخریب هوای OMW است (Anniabile et al., 2006, Aquilanti et al., 2014, Jalilnejad and Vahabzadeh, 2014, Gomez- De Jesus et al., 2009, Martins et al., 2011, Paraskeva and Diamadopoulos, 2016)

به منظور بررسی تأثیر نرخ هوادهی (Q_g) بر میزان تجزیه زیستی TP در پساب، دبی‌های هوای برابر 100 ، 200 و 400 میلی‌لیتر بر دقیقه در غلظت ثابت OMW مورد مطالعه قرار گرفت که نتایج کار



می‌شود که باعث افزایش انتقال جرم و میزان دریافت اکسیژن توسط باکتری می‌شود که افزایش فعالیت آنزیم را در پی دارد (Ranjbar et al., 2016). البته با توجه به حضور مواد فنلی موجود در پساب رنگ آن به صورت قهوه‌ای متمایل به تیره است و از این رو اندازه‌گیری میزان رشد باکتری میسر نبود ولی با انجام آزمایش در شرایط کنترلی و عدم حضور باکتری این نتیجه به دست آمد که هیچ کاهش مواد فنلی و COD در آزمایش کنترلی دیده نشد که این نتیجه تخریب زیستی پساب و عملکرد باکتری هوازی را به‌عنوان تنها عامل تیمار پساب در آزمایشات اصلی تأیید می‌نمود.

۳-۲- بررسی تأثیر غلظت اولیه OMW

توانایی باکتری رالستونیا یوتروفا برای تخریب زیستی OMW در راکتور ALR-NDT در سه غلظت مختلف ترکیبات فنلی در پساب از مقدار ۶۶۰ تا ۲۶۲۰ میلی‌گرم در لیتر بررسی شد. دو شاخص آلاینده‌گی TP و COD در بازه‌های زمانی مشخص اندازه‌گیری شد. میزان بازدهی فرایند به‌صورت درصد حذف مواد فنلی (E_{TP}^1) از معادله ۱ محاسبه شد

$$E_{TP}\% = \frac{S_0 - S_f}{S_0} * 100 \quad (1)$$

که در معادله بالا S_0 و S_f به‌ترتیب مقدار غلظت اولیه و نهایی TPPs در پساب است.

شکل ۳ روند کاهش و حذف ترکیبات فنلی توسط باکتری مورد نظر در راکتور زیستی ALR-NDT را نشان می‌دهد. در مرحله اول با پساب چهار برابر رقیق شده (۶۶۰ میلی‌گرم در لیتر) در مدت زمان ۹۶ ساعت، ترکیبات فنلی تا حدود ۹۵ درصد کاهش یافته است. در پساب دو برابر رقیق شده (غلظت ۱۲۲۰ میلی‌گرم در لیتر)، در مدت زمان ۹۶ ساعت غلظت به ۵۰ میلی‌گرم در لیتر رسیده که حذف حدود ۹۶ درصد را نشان می‌دهد. آزمایش انجام شده برای پساب رقیق نشده کاهش TP از مقدار ۲۶۲۰ به ۱۰۹۰ میلی‌گرم در لیتر را در مدت ۱۱۰ ساعت نشان می‌دهد. با گذر زمان باکتری فرصت برای القای آنزیم مناسب را پیدا می‌کند و از میزان TP به مقدار قابل ملاحظه‌ای کاسته می‌شود. در مراحل اولیه، باکتری آلاینده‌های آلی را به‌عنوان خوراک خود برای رشد و

اشاره شد با افزایش نرخ هوادهی از ۱۰۰ به ۲۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه، حدود ۶۰ میلی‌گرم در لیتر مواد فنلی بیشتری حذف شده، در حالی که با افزایش هوادهی از ۲۰۰ به ۴۰۰ مقدار TP بیشتری (۳۰ میلی‌گرم در لیتر) تجزیه می‌شود. مشخص است که هرچقدر میزان هوادهی بیشتر شود، کاهش TP روند آهسته‌تری دارد به‌طوری‌که بین دو دبی ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه اختلاف حذف TP محسوسی مشاهده نشد. البته میزان سرعت تخریب اولیه ۲۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه از سایر نرخ هوادهی در ۱۰ ساعت اولیه بیشتر است اگرچه با گذشت زمان از سرعت آن کاسته شد، اما در نهایت مقدار بیشتری از مواد فنلی در مقایسه با نرخ دبی ۱۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه حذف شد. رشد خوب و متعادل باکتری در شروع فرایند تابع تأمین کافی سوبسترا (مواد مغذی و اکسیژن) و عدم وجود محدودیت‌های سوبسترای است که میزان حذف بالای TP در ساعات اولیه در نرخ هوادهی ۲۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه نشانگر رشد خوب سلول‌های باکتری، القای میزان آنزیم کافی و مقاومت آنها در برابر مواد سمی و سخت تخریب‌پذیر موجود در پساب است. در نتیجه با در نظر گرفتن میزان سرمایه‌گذاری اولیه و هزینه پمپاژ هوا در صنعت، و همچنین میزان تفاوت ناچیز بازدهی فرایند در نرخ هوادهی ۲۰۰، ۴۰۰ و ۲۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه به‌عنوان میزان بهینه هوادهی در آزمایش‌های مرحله بعد در نظر گرفته شد.

از نتایج به‌دست آمده مشخص است که طراحی مناسب این راکتور از جمله حضور لوله داخلی مشبک تأثیر قابل توجهی در میزان حذف آلاینده داشته است و شرایط هیدرودینامیکی لازم را برای تیمار پساب فراهم کرده است. به این صورت که از برخورد حباب‌های هوا با سوراخ‌های لوله داخلی حباب‌های ریزتری تشکیل می‌شود و توزیع حباب‌ها در داخل سیال بیشتر می‌شود. با افزایش میزان هوادهی مقدار اکسیژن بیشتری در سیال حل می‌شود، به این معنی که نگهداشت گاز بالا می‌رود و متعاقباً میزان تخریب افزایش می‌یابد. همچنین افزایش نرخ انتقال جرم را می‌توان از معادلات انتقال جرم پیش‌بینی کرد به این صورت که با افزایش نرخ هوادهی گردهای کوچک تشکیل خواهند شد که موجب افزایش ضریب نفوذ انتقال جرم و ترم جابه‌جایی در معادله انتقال جرم می‌شود. دلیل دوم اثر مثبت هوادهی با نرخ بالاتر، مربوط به اختلاط در سیستم و زمان اختلاط است، بدین معنی که با افزایش هوادهی سرعت گردش مایع افزایش می‌یابد و در اکثر نقاط آن تلاطم ایجاد

¹ Efficiency of TP removal



به جلوگیری از افزایش قابل ملاحظه حجم پساب و موجب عدم مصرف بیهوده مقدار زیاد آب می شود، بسیار قابل توجه است. در پژوهش های مختلف دیدگاه دیگری نیز در مطالعه شکل منحنی های تخریب زیستی آلاینده ها مطرح شده است. در شکل ۴ می توان غیرخطی بودن روند تخریب را برای غلظت های متفاوت مشاهده نمود. فاز تأخیری ناچیزی برای دو غلظت چهار و دو برابر رقیق شده مشاهده می شود ولی برای پساب رقیق نشده با حداکثر غلظت اولیه ترکیبات فنلی دیده نمی شود. عدم رویت فاز تأخیری در غلظت بالا را می توان به غلظت زیاد ترکیبات و مواد مغذی موجود در پساب که مستقیماً در دسترس سلول های باکتری قرار می گیرند نسبت داد که با مصرف سریع مواد اولیه با تخریب پذیری آسان (مثل مواد قندی)، توده سلولی بیشتری در محیط OMW رشد می کند که این میزان بالای سلول های باکتریایی، به راحتی و به علت سازگاری زیاد با ترکیبات فنلی در غلظت زیاد، به سرعت باعث تخریب آلاینده و کاهش TP بدون ایجاد فاز تأخیری شده است. در پساب رقیق شده این مواد مغذی اولیه با غلظت کمتر در دسترس است و توده سلولی کمتری در محیط رشد نموده است که مقاومت کمتری در مقابل غلظت آلاینده دارد و این امر سبب ایجاد فاز تأخیری در غلظت های کمتر شده است. این گونه مشاهدات نشانگر پاسخ متابولیکی متفاوت *رالستونیا یوتروفا* به غلظت های اولیه مختلف OMW متفاوت است که موارد مشابه در پژوهش های مختلف نیز دیده شده است (Khalid and Nass 2012, Martins et al., 2015, Simkins Alexander, 1984). در شکل ۴ روند کاهش COD توسط باکتری *رالستونیا یوتروفا* از پساب که معرف مواد آلی موجود در سوبسترا است، نشان داده شده است. در طی فرایند ۱۱۰ ساعته میزان بازدهی در حدود ۴۲ درصد برای پساب ۴ برابر رقیق شده به دست آمد (معادله ۲)

$$E_{\text{COD}} \% = \frac{\text{COD}_0 - \text{COD}_f}{\text{COD}_0} * 100 \quad (2)$$

که COD_0 و COD_f معرف مقدار مواد آلی اولیه و نهایی پساب است. با توجه به نتایج شکل ۴، در پساب دو برابر رقیق شده مقدار COD از ۴۴۶۷۰ به ۲۴۵۰۰ میلی گرم در لیتر کاهش یافت (۴۵ درصد کاهش) و در پساب رقیق نشده در حدود ۳۹ درصد کاهش COD به دست آمد.

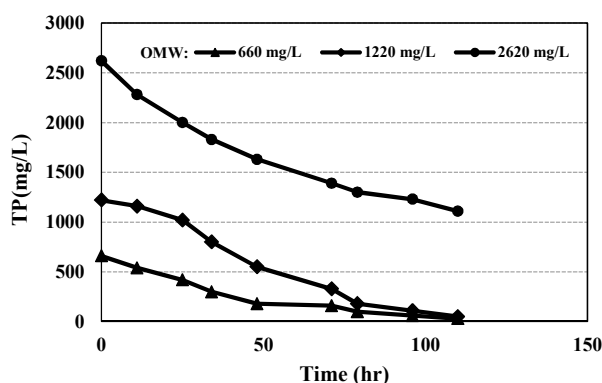


Fig. 3. Reduction in TP concentration at under different initial concentration of OMW at a the fixed aeration rate of 200 ml/min ($T=30^{\circ}\text{C}$)

شکل ۳- تأثیر غلظت اولیه پساب روغن گیری از دانه زیتون بر میزان حذف TP در نرخ هوادهی ثابت ۲۰۰ میلی لیتر بر دقیقه (دمای 30°C)

القای آنزیم مصرف می کند و در ادامه با حمله به حلقه آروماتیک مواد فنلی در صورت تخریب کامل آلاینده، آن ها را به H_2O و CO_2 محلول در آب که برای محیط زیست خطر محسوب نمی شوند، تبدیل می کنند (Khalid and Nass, 2012, Montazavinos & Psillakis, 2004, Rivas et al., 2001). در پژوهش های مختلف با توجه به نوع باکتری، نوع فرایند و مکانیسم تخریب، مواد حد واسط متفاوتی برای این فرایند تیمار به دست آمده است. ترکیبات حد واسط در این پژوهش بررسی نشده است ولی بر طبق مطالعات انجام شده می توان به کتکول و هیدروکوپینون به عنوان حد واسط های مهم ایجاد شده در فرایند تخریب OMW توسط باکتری هوازی اشاره نمود. برخی از مواد حد واسط ایجاد شده حتی می توانند سمی تر و سخت تخریب پذیرتر از مواد اولیه باشند که تجمع آنها در محیط رشد سبب ایجاد خاصیت بازدارندگی محصول (ماده حد واسط) می شود و اثر منفی بر سرعت تخریب آلاینده دارد (Tay et al., 2006). شکل ۳ نشان می دهد که با افزایش غلظت اولیه، روند تخریب بدون ایجاد بازدارندگی صورت می گیرد که این روند بیانگر توانایی این باکتری در حذف آلاینده های فنلی حتی در غلظت های بالای آلاینده است و در برابر مواد سمی از خود مقاومت نشان می دهد.

نتایج به دست آمده در این پژوهش به عنوان نتایج اولیه در تأیید قابلیت استفاده از این باکتری و بیوراکتور پیشنهادی در مقیاس بزرگ تر، کاربردی بودن آن، عدم نیاز به رقیق سازی پساب که منجر



قابل قبولی کاهش یافته است. وجود مقدار زیادی از ترکیباتی که به راحتی قابل سوخت و ساز هستند باعث جلوگیری از مصرف ترکیباتی می‌شوند که معمولاً سخت‌تر متابولیزه و تخریب می‌شوند. پساب OMW به علت طبیعی بودن و بار آلی زیاد دارای ترکیبات آروماتیکی مختلفی است. آنزیم‌های بسیار متنوعی با مکانیسم‌های شکست و مسیرهای فرایندی گوناگون، در حذف این ترکیبات و تیمار زیستی این پساب درگیر هستند، فعالیت‌های متابولیکی گوناگونی را از خود نشان می‌دهند (Jalilnejad et al., 2011, Rivas et al., 2001). ولی تولید موادی با قابلیت تخریب‌پذیری سخت در فرایند تیمار، نیازمند زمان بیشتری برای القای آنزیم مربوطه (در صورت وجود آنزیم) است که همین زمان تأخیری، باعث افت سرعت کاهش COD در بعضی بازه‌های زمانی فرایند تیمار شده است. با توجه به نتایج ارائه شده در شکل ۴ از زمان ۱۰۰ ساعت به بعد، تغییرات محسوسی در مقدار COD مشاهده نشده است که نشانگر کند شدن فرایند تخریب به علت تجمع مواد سخت تخریب‌پذیر است.

۳-۳- بررسی سینتیک تخریب سوپسترا

OMW ترکیبی است که به راحتی نمی‌شکند و فعالیت زیستی بیشتر ریزجاندارها را در غلظت‌های کم و زیاد محدود می‌کند. از آنجا که نمی‌توان به صورت تفکیک شده سهم فعالیت آنزیم‌های مختلف درگیر در فرایند تخریب زیستی را تعیین کرد، مطالعاتی درباره سینتیک و متابولیسم گونه‌ها و مخلوط‌های معین میکروبی مورد نیاز است تا پارامترهای سینتیک تخریب و همچنین تأثیر شرایط عملیاتی برای جداسازی ترکیبات مورد نظر در فرایند به دست آید. فاکتورهای مختلفی همچون دما، pH، حضور اکسیژن محلول و مقاومت در برابر سمیت بر سینتیک تخریب پساب مؤثر هستند (Habibi and Vahabzadeh, 2013).

پژوهشگران بسیاری معادله درجه اول مونود را برای اکسیداسیون ترکیبات آروماتیک به کار برده‌اند. این معادله برای غلظت‌های مختلف سوپسترا با فرض عدم وجود بازدارندگی رقابتی و سمیت محصولی به کار می‌رود و به صورت معادله ۳ بیان می‌شود (Borja et al., 1997, Levenspiel and Han, 1998):

$$q_s = \frac{q_{max} * S}{K_s + S} \quad (3)$$

سهم ترکیبات آلی در مقدار بالای COD مربوط به OMW بسیار زیاد است. بنابراین رفتار مولکولی کاهش زیستی COD در مقایسه با الگوی حذف ترکیبات فنلی متفاوت است. در غلظت‌های بالای OMW، تمامی ترکیبات آلی و مغذی موجود در این پساب طبیعی با غلظت زیاد در دسترس سلول‌های باکتری است که در نتیجه ترکیبات ساده با قابلیت تخریب‌پذیری آسان به سرعت توسط بیوکاتالیست‌ها (سلول‌های باکتری) مصرف می‌شوند. این تخریب سریع و شکست آسان، باعث سرعت کاهش و افت COD در غلظت‌های زیاد OMW است؛ این تفسیر با نتایج آزمایشگاهی نشان داده شده در شکل ۴ مطابقت دارد و بیشترین افت COD در بالاترین میزان غلظت OMW (یعنی پساب رقیق نشده) دیده می‌شود. همانطور که در این شکل مشخص است، در فرایند حذف زیستی COD، نوساناتی مشاهده می‌شود که این نوسانات از تولید مواد حد واسط در حین تیمار ناشی می‌شود، به این صورت که با تخریب مواد آلی ممکن است که مواد آلی دیگری با غلظت متفاوت (حتی با سمیت بیشتر) تولید شود. این مواد حد واسط تولیدی در صورت داشتن خاصیت بازدارندگی، سمیت زیاد و عدم قابلیت تخریب می‌توانند در محلول تجمع کنند که در نتیجه حضور آنها در محلول باعث کاهش سرعت رشد سلول‌های باکتری می‌شود و در نتیجه میزان COD در بعضی از بازه‌های زمانی نشان داده شده در نمودار افزایش یافته است اما در کل فرایند، مقدار COD به میزان

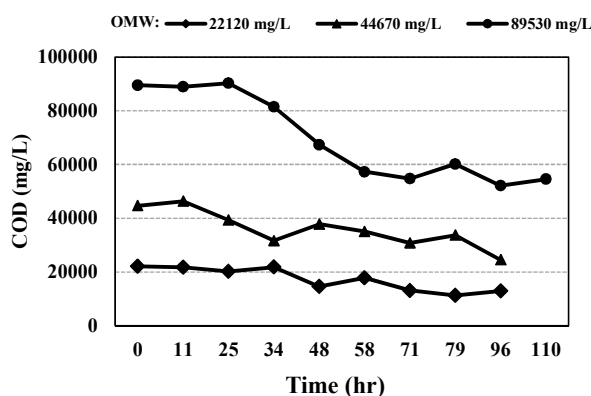


Fig. 4. Effect of initial concentration of OMW on the reduction of COD concentration under different time at the fixed aeration rate of 200 ml/min (T= 30°C)

شکل ۴- تأثیر غلظت اولیه پساب استحصال روغن زیتون بر میزان حذف اکسیژن مورد نیاز شیمیایی در نرخ هوادهی ثابت ۲۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه (دمای ۳۰ °C)



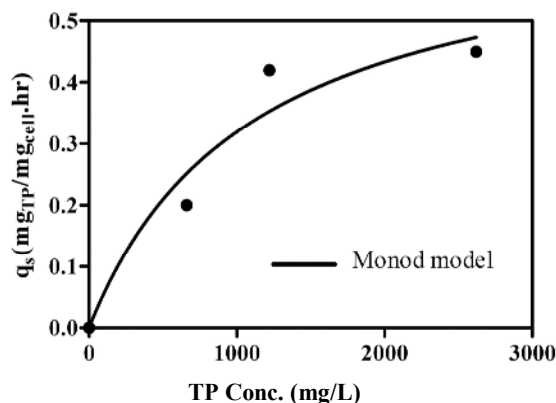


Fig. 5. Monod kinetic model
شکل ۵- نمودار مدل سینتیکی مونود

همچنین این درصد حذف در مدت زمان ۹۶ ساعت حاصل شد که کارایی بالاتر راکتور ALR-NDT نسبت به راکتور بستر ثابت در فرایندهای تخریب زیستی هوازی را نشان می‌دهد.

در پژوهش دیگری به بررسی کاهش مواد فنلی در OMW با استفاده از گونه قارچی و راکتور هواراند با شرایط عملیاتی پیوسته و ناپیوسته در دو مرحله جدا از هم پرداخته شده است. میزان کاهش مواد فنلی برای عملیات ناپیوسته در حدود ۷۰ درصد و برای عملیات پیوسته ۶۸ درصد گزارش شده است. علت کاهش تخریب زیستی مواد فنلی نسبت به این پژوهش را می‌توان به توری داخلی راکتور که نقش اساسی در میزان انتقال جرم ایفا می‌کند، نسبت داد. با قرار دادن توری داخلی، شدت انتقال جرم، تلاطم و ضریب انتقال جرم حجمی افزایش می‌یابد. در نتیجه، با این توری و گردش جریان مناسب، از ایجاد نواحی مرده که در آن ریزجانداران به اکسیژن دسترسی ندارند، جلوگیری می‌شود. همچنین با برخورد مولکول‌های بزرگ اکسیژن به جداره توری، اندازه آنها کاهش یافته و دسترسی ریزجاندار به اکسیژن مورد نیاز بیشتر می‌شود (Olivieri et al., 2012).

رنجبر و همکاران با استفاده از باکتری *رالستونیا یوتروفا* در راکتور هواراند با لوله داخلی مشبک به بررسی حذف زیستی هوازی فنل و پارامترهای هیدرودینامیکی راکتور پرداختند. مقدار ضریب حجمی انتقال جرم در این راکتور تقریباً $1/2$ برابر راکتور هواراند بدون لوله داخلی مشبک به دست آمد که نشان از تأثیر بسزای این لوله داخلی مشبک در افزایش انتقال جرم دارد. همچنین به واسطه این لوله داخلی مشبک میزان زمان اختلاط آن کاهش و میزان

که در این معادله

q_s معادله نرخ ویژه مصرف سوپسترا (بر حسب گرم سوپسترا بر گرم توده سلولی بر ساعت) و q_{max} بیشینه نرخ ویژه مصرف سوپسترا است که مقدار آن در این کار $0.22 \text{ g}_{sub} \cdot (\text{g}_{cel.l} \cdot \text{hr})^{-1}$ به دست آمد. S غلظت سوپسترای مورد نظر (TP) و K_S ثابت اشباع است که معیاری برای سنجش تمایل سلول به سوپسترا بوده و برابر میزان سوپسترای مورد نیاز سلول برای رسیدن نرخ ویژه مصرف سوپسترا به نصف مقدار q_{max} است که در این پژوهش مقداری برابر ۸۶۳ میلی‌گرم در لیتر برای آن به دست آمد. r_s نرخ مصرف سوپسترا (مواد فنلی) است که با استفاده از شیب نمودار تغییرات غلظت OMW بر حسب زمان (گرم سوپسترا بر لیتر بر ساعت) به دست می‌آید. به این ترتیب نرخ ویژه مصرف سوپسترا (q_s) با استفاده از معادله ۴ تعیین می‌شود

$$q_s = \frac{1}{X} r_s = -\frac{1}{X} \frac{dS}{dt} \quad (4)$$

که در آن X غلظت میکرب، S غلظت سوپسترا و t زمان فرایند تخریب زیستی است. نتایج کار در شکل ۵ نشان داده شده است. به دلیل آن که بازدارندگی در طول فرایند حذف زیستی مشاهده نشده است، انطباق داده‌های آزمایشگاهی با مدل مونود به خوبی انجام گرفته است به صورتی که مقدار R^2 برای آن ۰/۹۵ به دست آمده است. در نتیجه مدل مونود به عنوان مدل مناسب سینتیکی برای توصیف فرایند تخریب زیستی OMW با *رالستونیا یوتروفا* در این پژوهش معرفی شده است.

در پژوهشی راکتور بستر ثابت ناپیوسته و پایه‌های آلجینات به عنوان پایه تثبیت میکربی برای تیمار زیستی OMW استفاده شده است. ریزجاندار مورد استفاده *Rhodotorula glutinis* بوده است. میزان غلظت اولیه TP در پساب از ۳۰۰ تا ۱۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر متغیر بوده و بیشترین درصد حذف در فرایند ۸۷ درصد در ۱۲۰ ساعت تجزیه زیستی به دست آمده است (Bozkoyunlu and Takac, 2014). ولی در این پژوهش با وجود این که مقدار غلظت اولیه تقریباً دو برابر پژوهش مذکور بود، مقدار درصد حذف TP حدود ۹۵ درصد حاصل شد که نشان دهنده توانایی سلول‌های آزاد باکتری *رالستونیا یوتروفا* در این فرایند است. این در حالی است که میکرب تثبیت شده مقاومت بالاتری نیز در برابر آلاینده دارد.



به دست آمد که بیانگر مشخصات فیزیکی و هیدرودینامیکی مناسب راکتور و توانایی تخریب بالای باکتری در غلظت‌های بالا از آلاینده بوده است. در مرحله آخر مدل سینتیکی مونود برای بیان سرعت تخریب TP توسط باکتری انتخاب شد، که گویای عدم بازدارندگی پساب بر روی باکتری بوده است.

در این فرایند، برای بررسی توانایی راکتور زیستی و باکتری در تیمار زیستی پساب، پارامترهای مختلفی بر میزان حذف TP و COD مورد بررسی قرار گرفت که نتایج زیر حاصل شد:

- تأثیر نرخ هوادهی بر میزان حذف TP مورد بررسی قرار گرفت و با افزایش میزان هوادهی مقدار حذف آلاینده‌ها بیشتر شد و نرخ ۲۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه با در نظر گرفتن هزینه اولیه به‌عنوان مقدار بهینه انتخاب شد.

- میزان تأثیر غلظت اولیه سوبسترا بر کاهش آلایندهی TP بررسی شد و میزان بازدهی حذف مواد فنلی بیشینه حدود ۹۶ درصد و در میزان غلظت اولیه ۱۲۲۰ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد که نتیجه قابل قبولی است.

- تأثیر غلظت اولیه پساب بر حذف COD مورد بررسی قرار گرفت و بیشینه میزان حذف COD در غلظت اولیه ۱۲۲۰ میلی‌گرم در لیتر حدود ۴۵ درصد به دست آمد.

- معادله درجه اول مونود به‌عنوان سینتیک مورد نظر برای تخریب آلاینده TP در نظر گرفته شد و مطابقت خوبی با نتایج آزمایشگاهی داشته است.

- راکتور هواراند با لوله مشبک داخلی به‌عنوان یک راکتور زیستی مناسب و با غلبه بر محدودیت‌های انتقال جرمی محتمل برای تیمار پساب‌های با بار آلی زیاد و فرایندهای نیازمند انتقال جرم بالا پیشنهاد می‌شود.

نگهداشت گاز آن افزایش یافته است. باکتری مورد استفاده در این پژوهش در حضور فنل رشد قابل قبولی داشته است. مقایسه پژوهش انجام شده با این پژوهش نشان می‌دهد که با وجود این که از پساب واقعی کارخانه استخراج روغن زیتون که مقدار آلاینده‌های موجود آن و بار سمی پساب خیلی بیشتر از پساب سنتزی است، استفاده شده است، میزان رشد باکتری و تجزیه زیستی آلاینده قابل توجه بوده است (Ranjbar et al., 2016).

جلیل نژاد و همکاران با استفاده از باکتری *رالستونیا یوتروفا* در راکتور بستر ثابت با پایه‌های تثبیت میکربی طبیعی لوفابه بررسی تجزیه زیستی OMW در شرایط هوازی پرداختند. مقدار اولیه TP و COD برابر ۲/۵ و ۸۵ گرم در لیتر بوده است. در آخر مقدار کاهش TP در حدود ۵۶ درصد و COD ۴۲ درصد به دست آمده است (Jalilnejad et al., 2011). اما در این پژوهش مقدار کاهش TPPs بیشتر بود که نشانگر کارآمدی راکتور اصلاح شده هواراند در تأمین شرایط مناسب برای رشد باکتری بوده و محدودیت انتقال جرمی اکسیژن و مواد مغذی موجود در راکتور بستر ثابت با تغییر راکتور بهبود یافته است.

۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش، باکتری از قبل سازگار شده با فنل (*رالستونیا یوتروفا*) به‌عنوان کاتالیست زیستی انتخاب شد، و در داخل راکتور زیستی اصلاح شده هواراند با لوله داخلی مشبک که محیطی مناسب برای انجام واکنش‌های زیستی و تخریب آلاینده‌های پساب OMW است، قرار گرفت. این راکتور اصلاح شده به دلیل وجود لوله داخلی مشبک، میزان اختلاط و انتقال جرم را افزایش داد و در نتیجه میزان کاهش قابل توجهی در میزان دو آلاینده TP و COD

References

- Ahmadi, M., Vahabzadeh, F., Bonakdarpour, B., Mehranian, M. & Mofarrah, B. 2006. Phenolic removal in olive oil mill wastewater using loofah-immobilized *Phanerochaete chrysosporium*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 22, 119-127.
- Amor, C., Lucas, M., Garcia, J., Dominguez, J., Heredia, J. B. D. & Peres, J. A. 2015. Combined treatment of olive mill wastewater by Fenton's reagent and anaerobic biological process. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 50, 161-168.



- Annibale, A. D., Quarantino, D., Federici, F. & Fenice, M. 2006. Effect of agitation and aeration on the reduction of pollutant load of olive mill wastewater by the white-rot fungus *Panus tigrinus*. *Biochemical Engineering Journal*, 29, 243-249.
- APHA. 1998. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. Washington, D.C., USA.
- Aquilanti, L., Taccari, M., Bruglieri, D., Osimani, A., Clementi, F., Comitini, F., et al. 2014. Integrated biological approaches for olive mill wastewater treatment and agricultural exploitation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 88, 162-168.
- Borja, R., Alba, J. & Banks, Ch. J. 1997. Impact of the main phenolic compounds of olive mill wastewater (OMW) on the kinetics of acetoclastic methanogenesis. *Process Biochemistry*, 32, 121-133.
- Bozkoyunlu, G. & Takac, S. 2014. Parameters and kinetics of olive mill wastewater dephenolization by immobilized *Rhodotorula glutinis* cells. *Environmental Technology*, 35, 3074-3081.
- Cerrone, F., Barghini, P., Pesciaroli, C. & Fenice, M. 2011. Efficient removal of pollutants from olive washing wastewater in bubble-column bioreactor by *Trametes versicolor*. *Chemosphere*, 84, 254-259.
- Chareles, F. B., Sebastian, L. R., Florian, H., Stefan, R., Milan, K. P., Chokyoum, R., et al. 2011. Growth and polyhydroxybutyrate production by *Ralstonia eutropha* in emulsified plant oil medium. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89, 1611-1619.
- Chiavola, A., Farabegoli, G. & Antonetti, F. 2014. Biological treatment of olive mill wastewater in a sequencing batch reactor. *Biochemical Engineering Journal*, 85, 71-78.
- Daassi, D., Sanchez, J. L., Linares, I. B., Belbahri, L., Woodward, S., Mechichi, H. Z., et al. 2014. Olive oil mill wastewaters: Phenolic content characterization during degradation by *Coriopsis gallica*. *Chemosphere*, 113, 62-70.
- Gomez-De Jesus, A., Romano-Baez, F.J., Leyva-Amezcuca Ljuarez-Ramirez, C., Ruiz-Ordaz, N. & Galindez-Mayer, J. 2009. Biodegradation of 2,4,6-trichlorophenol in a packed-bed biofilm reactor equipped with an internal net draft tube riser for aeration and liquid circulation. *Journal of Hazardous Materials*, 161, 1140-1149.
- Gunay, A. & Cetin, M. 2013. Determination of aerobic biodegradation kinetics of olive oil mill wastewater. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 85, 237-242.
- Habibi, A. & Vahabzadeh, F. 2013. Degradation of formaldehyde in packed-bed bioreactor by Kissiris-immobilized *Ralstonia uotropha*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 18, 455-464.
- Jalilnejad, E., Mogharei, A. & Vahabzadeh, F. 2011. Aerobic pretreatment of olive oil mill wastewater using *Ralstonia eutropha*. *Environmental Technology*, 32, 1085-1093.
- Jalilnejad, E. & Vahabzadeh, F. 2014. "Use of a packed-bed airlift reactor with net draft tube to study kinetics of naphthalene degradation by *Ralstonia eutropha*. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 4592-4604.
- Khalid, T. A. & Naas, M. H. E. 2012. Aerobic biodegradation of phenols: A comprehensive review. *Environmental Science and Technology*, 42, 1631-1690.
- Levenspiel, O. & Han, K. 1998. Extended Monod kinetic for substrate, product, and cell inhibition. *Biotechnology and Bioengineering*, 32, 430-437.



- Marquez, P. M., Toledo, M. V. M., Fenice, M., Andrade, L., Lasserrot, A. & Lopez, J. G. 2014. Biotreatment of olive washing wastewater by a selected microalgal-bacterial consortium. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 88, 69-76.
- Martins, R. C., Ferreira, A. M., Ferreira, L. M. G. & Ferreira, R. M. Q. 2015. Ozonation and ultrafiltration for the treatment of olive mill wastewaters: Effect of key operating conditions and integration schemes. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 15587-15597.
- Marvin-Sikkema, F. D. & De Bont, J. A. M. 1994. Degradation of nitroaromatic compounds by microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 42, 499-507.
- Montazavinos, D. & Psillakis, E. 2004. Enhancement of biodegradability of industrial wastewater by chemical oxidation pre-treatment. *Chemical Technology and Biotechnology*, 79, 431-454
- Nickzad, A., Mogharei, A., Monazzami, A., Jamshidian, H. & Vahabzadeh, F. 2012. Biodegradation of phenol by *Ralstonia eutropha* in a Kissiris- immobilized cell bioreactor. *Water Environment Research*, 84, 626-634.
- Olivieri, G., Russo, M., E., Giardina, P., Marzocchella, A., Sannia, G. & Salatino, P. 2012. Strategies for dephenolization of raw olive mill wastewater by means of *Pleurotus Osteratus*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 39, 719-729.
- Paraskeva, P. & Diamadopoulou, E. 2016. Technologies for olive mill wastewater (OMW) treatment: A review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 81, 1475-1485.
- Qodah, Z. A., Shannag, M. A., Melhem, Kh. B., Assirey, E., Alananbeh, Kh. & Bouqellah, N. 2015. Biodegradation of olive mills wastewater using thermophilic bacteria. *Desalination and Water Treatment*, 56, 1908-1917.
- Ranjbar, S., Aghtaei, H. Kh., Jalilnejad, E. & Vahabzadeh, F. 2016. Application of an airlift reactor with a net draft tube in phenol bio-oxidation using *Ralstonia eutropha*. *Desalination and Water Treatment*, 57, 1-13.
- Riedel, S. L., Jahns, S., Koenig, S., Bock, M. C. E., Brigham, CH. J., Bader, et al. 2015. Polyhydroxyalkanoates production with *Ralstonia eutropha* from low quality waste animal fats. *Journal of Biotechnology*, 214, 119-127.
- Rivas, F. J., Beltran, F. G., Gemeno, O. & Frades, J. 2001. Treatment of olive oil mill wastewater by fentons reagent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1873-1880.
- Samanta, S. K., Bhushan, B., Chauchan, A., Chakraborti, A. K. & Gain, R. K. 2000. Chemotaxis of a *Ralstonia eutropha* sp. SJ98 toward different nitroaromatic compounds and their degradation. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 269, 117-123.
- Simkins, S. & Alexander, M. 1984. Models for mineralization kinetics with the variables of substrate concentration and population density. *Applied Environmental Microbiology*, 47, 1299-1306.
- Tay, J., H., Tay, S.T.L., Liu, Y., Show, K.Y. & Ivanov, V. 2006. *Biogranulation technologies for wastewater treatment: Microbial Granules*, Elsevier, Oxford, UK.
- Vlyssides, A. G., Loizidou, M., Karlis, P. K., Zorpas, A. & Papaioannou, D. 1999. Electrochemical oxidation of a textile dye wastewater using a Pt/Ti electrode. *Journal of Hazardous Materials*, 70, 41-52.