Archive of SID

یازدهمین همایش پژوهش های نوین در علوم و فناوری
11th Conference on Recent Research in Science and Technology
پاییز ۱۳۹۶
Fall 2017

بررسی اثر دما بر نیترات‌زدایی آب شرب به وسیله متان با استفاده از سویه

هایفومیکروبیوم دنیتریفیکن

احسان بهمنی[1]، محسن نصرتی[2]

[1]کارشناسی ارشد گروه بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس
Bahmani_e@yahoo.com

[2]عضو هیئت علمی گروه بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس
mnosrati20@modares.ac.ir

چکیده

آب به عنوان ترکیبی که سه چهارم از کل سطح زمین را پوشانده از عوامل ضروری برای ادامه حیات محسوب می‌شود. نیترات به عنوان یکی از مهمترین آلاینده‌های آب شرب در چند دهه اخیر مطرح شده است. ازاوایل دهه 1970 تلاش‌هایی در جهت به کارگیری متان، در فرآیند تصفیه زیستی آب‌های آلوده به نیترات آغاز گردیده که به پیشرفت‌های قابل تاملی رسیده است.

یکی از فاکتورهای مهم در فرآیندهای زیستی از جمله نیترات‌زدایی به روش زیستی را میتوان دما دانست. در این پژوهش اثر دما بر روی نیترات‌زدایی آب شرب به وسیله گاز متان در حضور سویه هایفومیکروبیوم دنیتریفیکن، بعد از ثابت نگه داشتن عوامل تاثیرگذار دیگر مانند دبی حجمی ورودی، pH، پتانسیل اکسیداسیون و احیا و جریان برگشتی بررسی شده است. مطابق انتظار نشان داده شده است افزایش دما باعث افزایش نرخ نیترات‌زدایی خواهد شد.

کلمات کلیدی: حذف زیستی نیترات، آب شرب، *هایفومیکروبیوم دنیتریفیکن*.

1. مقدمه

آب به عنوان ترکیبی که سه چهارم از کل سطح زمین را پوشانده از عوامل ضروری برای ادامه حیات محسوب می شود. اهمیت آب شرب به دلیل نیاز روز افزون و کاهش منابع غیرآلوده در سطح جهان بوده و تامین آب سالم و بهداشتی به عنوان یکی از مهمترین چالش‌های انسان در جوامع به ویژه در جوامع در حال توسعه مطرح می باشد. از جمله این آلاینده‌ها نیترات است که مطابق با بررسی های صورت گرفته یکی از مهمترین علت‌های غیرقابل استفاده بودن چاه‌های آب و آب‌های شرب است [1].

با گسترش تحقیقات بر روی مشکلات بهداشتی نیترات درآب شرب، از زمان کشف بیماری سندروم «کودک کبود» در سال 1945 و کشف ارتباط معنی‌دار شیوع بیماری‌هایی چون نقص در جنین، سقط جنین‌های خود به خود، پرفشاری خون،

www.SID.ir

Archive of SID

بزرگی بیش از حد و اختلال در عملکرد غده تیروئید و انواع خاصی از سرطان سیستم گوارش، نیاز جدی به فناوری‌های مؤثر و پر بازده برای پالایش منابع آب آشامیدنی آلوده به نیترات احساس می‌شود [2].

از دهه 1970 تلاش در جهت به‌کارگیری متان، در فرآیند تصفیه زیستی آب‌های آلوده به نیترات آغاز گردیده است. زیرا استفاده از گاز متان در فرآیند نیترات‌زدایی زیستی دارای مزایایی چون، ارزان بودن و دسترس‌پذیری بالا، حلالیت کم و خروج آسان از آب می‌باشد [3] .

در سال 1971 هاموس و کریستنسن حذف نیترات را در یک فلاسک حاوی پساب خانگی که از بالا تحت جریان خالص متان قرار داشت، مشاهده نمودند[4]. به دنبال آن، دیویس در سال 1973 ادعا نمود، باکتری‌ای قادر به استفاده از متان، مانند سایر منابع کربنی، به عنوان دهنده الکترون در نیترات‌زدایی جدا سازی کرده است. البته محیط مایع استفاده شده حاوی یک محلول ویتامینی بر پایه اتانول بود. احتمال می‌رود که در این آزمایش، باکتری‌های غیر متانوتروف غنی شده باشند. [5]

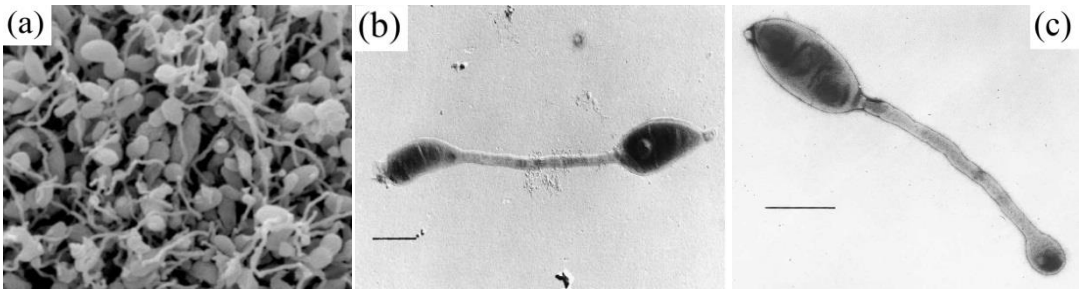
در سال 1987، ری و فاز فرضیه ای را مطرح کردند که می تواند فرآیند نیترات زدایی در حضور گاز متان را توضیح دهد. فرضیه می گوید که متان در حضور اکسیژن توسط متانوتروف‌های هوازی اکسیدشده و مواد آلی محلولی را آزاد می کند. این مواد می‌تواند توسط نیترات‌زداهای همزیست مورد استفاده قرار گیرد[6]. مطالعات اخیر توسط ایسلاس لیما وهمکاران در سال 2004 نشان می دهد نیترات زدایی تحت شرایط بی هوازی نیز ممکن است [7].

2. ریزسازواره، تجهیزات و نتایج و بحث

2-1. ریزسازواره مورد استفاده

سویه مورد بررسی از مجموعه ریزسازواره‌های DSMZ آلمان انتخاب و خریداری گردید. این باکتری نخستین بار در سال 1995 در مجموعه DSMZ با شناسه DSM1869 توسط یوراکامی و همکاران به ثبت رسیده است. سویه *هایفومیکروبیوم* گرم منفی، متیلوتروف اختیاری و مصرف کنندهٔ متانول و مونومتیل‌آمین می‌باشند.

سویه *هایفومیکروبیوم دینیتریفیکن* مانند سایر سویه‌های *هایفومیکروبیوم* گرم منفی و بدون تولید اسپور، عصا شکل با انتهای بیضی، تخم‌مرغی یا لوبیا شکل، با قطر 0/3 تا 0/6 میکرومتر و طول 1 تا 3 میکرومتر هستند. سلول‌ها هیف‌های تک قطبی یا دوقطبی تولید کرده که طول آن بین 0/3 تا 0/4 میکرومتر تغییر می‌کند. هیف‌ها دیواره‌دار نیستند (شکل1).



شکل1 شکل ظاهری سویه‌های *هایفومیکروبیوم a) توده سلولی و* هیفا ، b) سلول مادر و c)جوانه نابالغ [8]

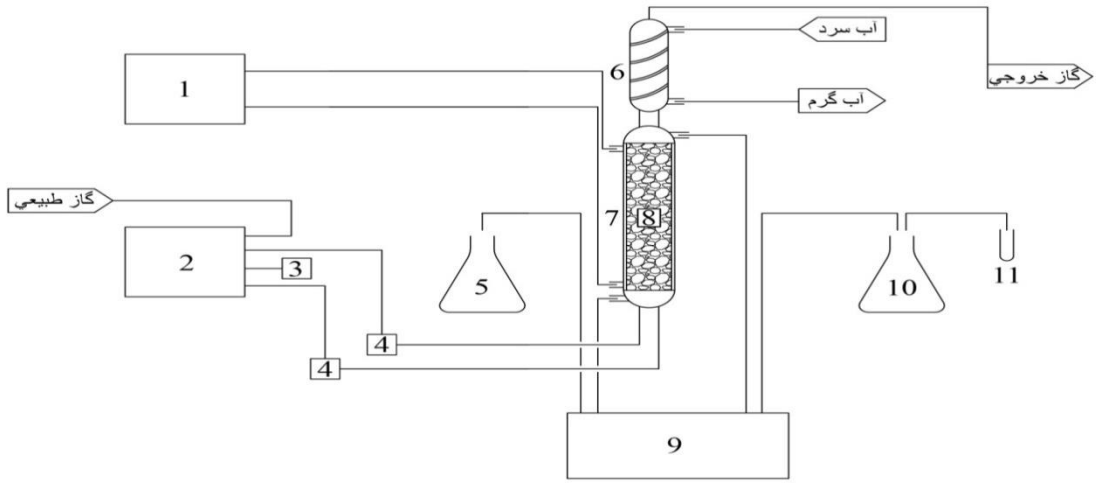
سلول‌ها توسط جوانه‌زدن در نوک هیف‌ها تکثیر می‌شوند. جوانه‌های بالغ متحرک می‌شوند، جدا شده و اغلب خودشان را به سطح بقیه سلول‌ها چسبانده و توده تشکیل می‌دهند. تحرک‌پذیری بعد از به هم چسبیدن از دست می‌رود. سلول‌ها در محیط نوترینت رشد نمی‌کنند. کلونی‌ها روی سطح آگار حاوی متانول به صورت براق، صاف، برآمده و با قطر 1 تا 2 میلی‌متر، بعد از 3 تا 6 روز در دمای 30 °C، هستند.

2-2. تجهیزات

www.SID.ir

Archive of SID

چون منبع کربن به صورت گاز وارد راکتور می شد انتخاب راکتور باید به گونه‌ای صورت می‌پذیرفت که کمترین م شکلات عملیاتی را در حین اجرا داشته باشد، به همین دلیل راکتور طراحی شده توسط یزدیان و همکاران انتخاب شد با توجه به تئوری مودین مبنی بر اینکه فرآیند حذف نیترات با متان در ریزمحیط‌های بی‌هوازی اتفاق می‌افتد و از آن جا که سامانه‌های رشد چسبیده دارای توده‌های سلولی متراکم‌تر می‌باشند لذا فضاهای کم اکسیژن در آنها بیشتر می‌باشد [9]، قرار بر این شد که راکتور حبابی بالا رونده به وسیله آکنه‌هایی پر شده تا بتوان سامانه‌های رشد چسبیده را بر روی آکنه‌ها ایجاد نمود.



شکل2 شکل شماتیک بیوراکتور

این سامانه همان‌طور که در شکل شماتیک 2 نشان داده شده است، شامل موارد زیر می‌باشد:

1. حمام آب گرم جهت تنظیم دمای بیوراکتور به صورت یک چرخه بسته از بیوراکتور عبور نموده و مجدداً به حمام بازگردانده می‌شود.
2. پمپ دوتایی که دارای دو لوله مکش و دو لوله تخلیه می‌باشد. یک سر مکش آن به منبع گاز شهری و سر تخلیه از طریق یک سه‌راهی به ورودی جریان سنج گاز متصل گردید. در سر دیگر یک فیلتر جهت مکش هوا نصب شده و سر تخلیه آن مجدداً توسط یک سه‌راهی متصل شد تا هوای فشرده را به جریان سنج هوا برساند.
3. فیلتر هوا
4. جریان سنج‌های گاز و هوا
5. ارلن حاوی آب آلوده به نیترات جهت خوراک دهی به راکتور به صورت پیوسته
6. چگالنده جهت کاهش تبخیر محیط کشت و انتقال گازهای خروجی به بیرون.
7. راکتور پرشده
8. آکنه
9. پمپ پریستالتیک دو موتوره جهت خوراک‌دهی و مکش مایع خروجی بعد از نیترات‌زدایی
10. ارلن نگهداری آب خروجی از راکتور بعد از نیترات‌زدایی
11. خروجی جهت نمونه‌گیری از ارلن

2-3. نتایج و بحث روی نتایج

همان طور که از شکل شماتیک 2 م شخص ا ست در این آزمایش ر شد باکتری به صورت ناپیو سته ولی حذف نیترات به صورت پیوسته انجام شد.

www.SID.ir

Archive of SID

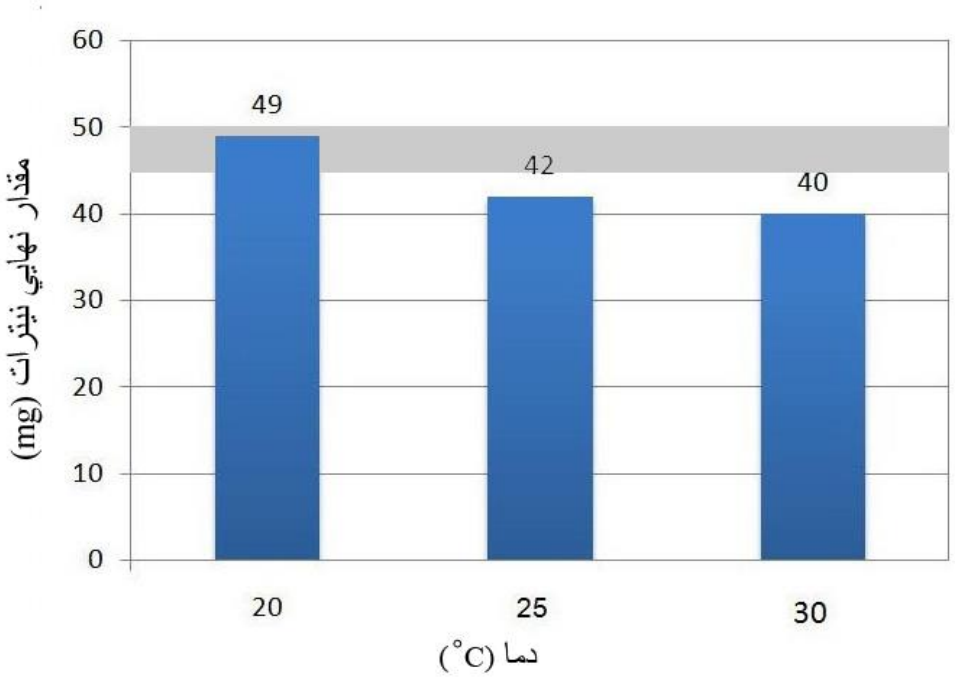
خوراک حاوی نیترات از پایین وارد راکتور شـــده پس از کاهش نیترات درون راکتور، از بالای راکتور خارج شـــده و در ارلن تجمیع مایع وارد می‌شـــد. به ازای هر 100 میلی لیتر مایع وارد شـــده به ارلن نگهدارنده یک نمونه از مایع درون راکتور گرفته می‌شد. علت این امر رصد فرایند درون کل سامانه است.

ارلن ورودی حاوی 1000 میلی لیتر آب مقطر بوده که 137/1 میلی‌گرم نیترات ســدیم در آن حل شــده اســت، در واقع غلظت نیترات درون ارلن 100 میلی گرم بر لیتر می‌باشد.

بررسی اثر دما روی نرخ حذف نیترات

یکی از فاکتورهای موثر بر حذف نیترات را می توان دما دانســت. در دماهای بالا نرخ نیتراتزدایی بیشــتری مشــاهده شــده است [7]، ولی تصفیه خانه‌ها اصولا در دماهای پایین فعالیت می کنند.

در این بخش به برر سی اثر دما روی نرخ نیترات زدایی پرداخته شد. 3 دمای انتخابی، دمای 30˚C که تو سط اوراکامی و همکاران دمای بهینه برای رشــد *هایفومیکروبیوم دنیتریفیکن* معرفی شــده اســت[10]، دمای 25˚C که توســط ناظمی برای نیترات زدایی انتخاب شـــده بود [11] و دمای 20˚C که توســـط اوراکامی به عنوان کمینه دمای فعالیت *هایفومیکروبیوم دنیتریفیکن* ارائه شده بود [10]، خوراک‌دهی با جریان حجمی 2/5 ml/min انجام شد. بقیه شرایط مانند مانند pH، دبی حجمی جریان ورودی، نوع پرکن، دبی حجمی جریان ورودی گاز متان، و حتی الامکان برای هر ســـه آزمایش یکســـان در نظر گرفته شد.نتایج در نمودار 1 آورده شده است.



نمودار1 مقدار نهایی نیترات باقی مانده در ارلن بر حسب دما

نمودار بالا نشان میدهد نیترات حذف شده در دمای 20˚C برابر 51 mg، در دمای 25˚C برابر 58 mg و در دمای 30˚C برابر 60 mg است.

سینتیک نیتراتزدایی زیستی

سرعت نیتراتزدایی متناسب با سرعت رشد هتروتروف‌هایی است که از نیترات به عنوان پذیرندهٔ الکترون استفاده می‌کنند. سرعت ر شد در نیتراتزدایی تحت تاثیر فاکتورهای متعددی چون م شخ صات جریان ورودی آب یا پ ساب، نوع فرآیند انتخاب شـده، شـرایط عملیاتی و منبع کربن مورد اسـتفاده قرار دارد. در واقع نیتراتزدایی متاثر از غلظت نیترات، غلظت منبع کربن و

www.SID.ir

Archive of SID

میزان اکسیژن محلول، مطابق با بیان مجزای مونودی است. سینتیک مونودی معمولاً برای توصیف فرآیند استفاده می‌شود. بیان مونود برای سرعت رشد ویژه (μ) به این صورت است [12]

$$\mu = \mu_m \left[\frac{C}{K_{sC} + C}\right]\left[\frac{N}{K_{sN} + N}\right]\left[\frac{K_{sDO}}{K_{sDO} + DO}\right] - b$$

c: غلظت منبع الکترون، mg/L

μ_m: بیشینه رشد ویژهٔ خالص، روز/1

K_{sC}: ضریب نصف سرعت برای الکترون دهنده، mg/L

N: غلظت نیترات بر حسب نیتروژن، mg/L

K_{sN}: ضریب نصف سرعت برای نیترات بر حسب نیتروژن، mg/L

DO: غلظت اکسیژن محلول، mg/L

K_{sDO}: ضریب نصف سرعت برای اکسیژن محلول، mg/L

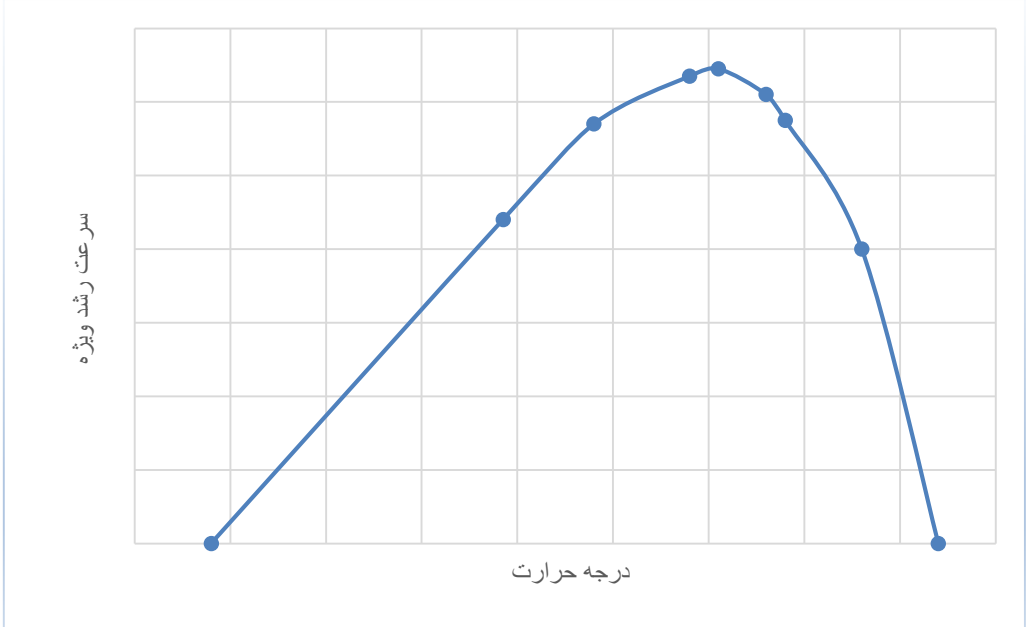
b: سرعت زوال باکتریایی، روز/1

زمانی که DO افزایش می‌یابد، نیترات‌زدایی تا توقف کامل کند می‌شود. وقتی اکسیژن محلول در سامانه بسیار کم می‌باشد، معادله بالا به این صورت کاهش می‌یابد [12]:

$$\mu = \mu_m \left[\frac{C}{K_{sC} + C}\right]\left[\frac{N}{K_{sN} + N}\right] - b$$

از روابط بالا می‌توان نتیجه گرفت که میزان حذف نیترات متناسب با سرعت رشد هتروتروف‌هایی است که از نیترات به عنوان پذیرندهٔ الکترون استفاده می‌کنند. یا به زبان ساده‌تر هرچه سرعت رشد ویژه (μ) بیشتر باشد میزان حدف نیترات بیشتر است.

اما از طرفی تغییرات سرعت رشد ویژه (μ) با تغیرات دما مطابق نمودار زیر است:



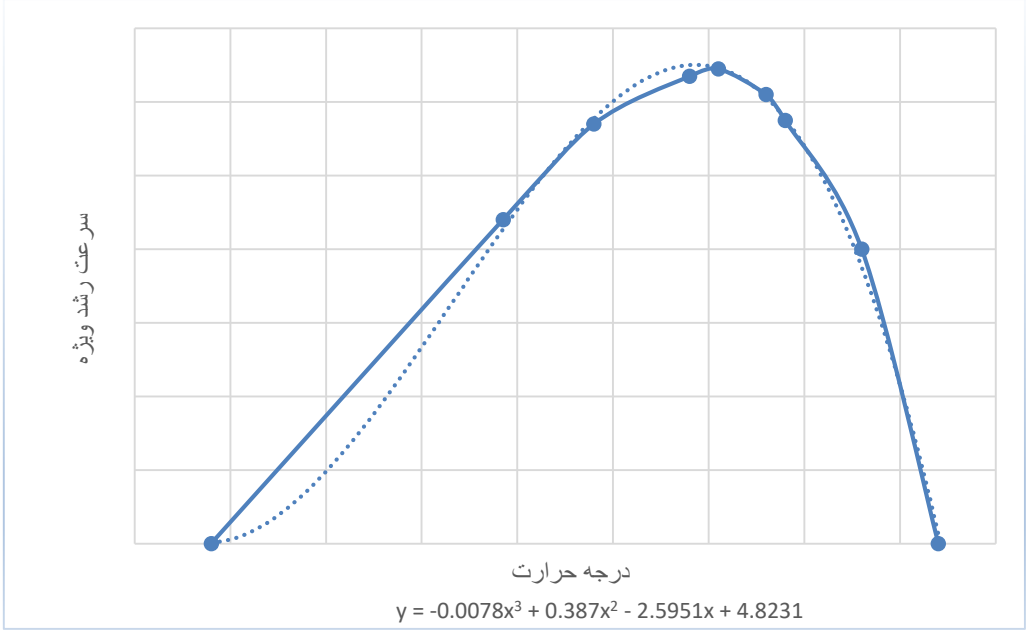
نمودار2 تاثیر درجه حرارت بر روی ضریب رشد

3. نتیجه‌گیری

با رسم نمودار تغییرات سرعت رشد ویژه در برابر دما و عبور یک منحنی با معادله درجه سه مطابق شکل‌های زیر:

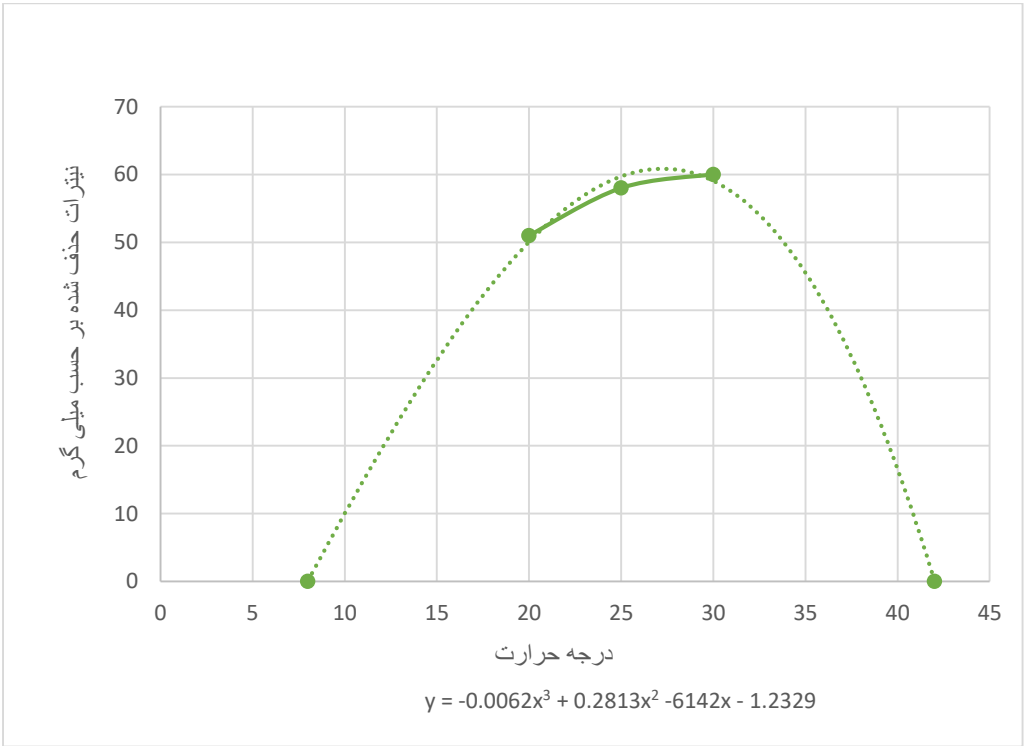
www.SID.ir

Archive of SID



نمودار3 عبور منحنی درجه 3 از با معادله مشخصه از نمودار سرعت رشد-درجه حرارت

و همچنین رسم منحنی با معادله درجه سه و مقایسه با نتایج به دست آمده از حذف نیترات در برابر دما:



نمودار4 مقایسه معادله درجه 3 به دست آمده نمودار3 با نتایج حذف نیترات در ببرابر درجه حرارت

می توان نتیجه گرفت که در آزمایشات انجام شده در راکتور پیوسته در حضور گازمتان و با استفاده از سویه *هایفومیکروبیوم دنیتریفیکن*، دمای 30°C دمای بهینه برای حذف نیترات اســـت که با نتایج مطالعات اوراکامی و همکاران مطابقت خوبی دارد. همچنین داده های بالا نشان دهنده تابعیت حذف نیترات نسبت سرعت رشد ویژه است.

www.SID.ir

Archive of SID

تشکر و قدردانی

بر خود واجب میدانم تا از زحمات و حمایت‌های دکتر عباس شجاع الساداتی کمال کمال قدردانی را داشته باشم.

مراجع

1. **Qing, Ye., Kaili, Li,. Zhelun, Li., Yi, Xu. (2017). Hetrotrophic Nitrification-Aerobic Denirifiaction Perfomance Of Strain Y-12 Under Low Temperetur And High Concentration Of Inorganic Nitrogen Condition (2017). Water, 9(11), 835;**
2. **Newcomer-Johnson, T., S. Kaushal, P. Mayer, AND M. Grese. (2017). A Case Study on Nitrogen Uptake and Denitrification in a Restored Urban Stream in Baltimore, Maryland (March 19 - 22, 2017). American Water Works Association, Sustainable Water Management Conference, New Orleans, Louisiana,.**
3. **Eisentraeger, A., Klag, P., Vansbotter, B., Heymann, E., Dott, W. (2001). Denitrification of groundwater with methane as solehydrogen donor. Water Research, 35, 9, 2261-2267.**
4. **Harremoes, P., Henze Christensen, M. (1971). Denitrification with methane. Vand. 1, 7-11.**
5. **Mason, I. (1977). Denitrification with methane. Water Pollution Control Federation, 49, 3, 855-857.**
6. **Rhee, G.Y., Fuhs, G.W. (1978). Wastewter denitrification with one carbon compounds as energy source. Water Pollution Control Federation, 50, 9, 2111-2119.**
7. **Islas-Lima, S., Thalsso, F., Gomez-Hernandez, J. (2004). Evidence of anoxic methane oxidation coupled to denitrification. Water research, 38, 13-16.**
8. **Urakami, T., Sasaki, J, Suzuki, K. (1995). Aerobic Characterization and Description of Hyphomicrobium. Journal of Systemtic Microbiology, 45, 3, 528-532.**
9. **یزدیان، فاطمه، (1388)، «تولید پروتئین تک یاخته (SCP) از گاز طبیعی». پایان نامه دکترا، دانشکده فنی، دانشگاه تربیت مدرس.**
10. **Urakami, T., Sasaki, J, Suzuki, K. (1995). Aerobic Characterization and Description of Hyphomicrobium. Journal of Systemtic Microbiology, 45, 3, 528-532.**
11. **ناظمی اشنی، ندا، (1388)، «حذف بیو لوژیکی نیترات آبهای زیرزمینی با استفاده از گاز طبیعی». پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده فنی، دانشگاه تربیت مدرس.Water Environment**
12. **Federation, 2005. Biological nutrient removal (BNR) operation in wastewater treatment plants. McGraw-Hill. 48-102.**
13. **ام آر، آدامز. ترجمه، مرتضوی، سید علی. (1391) «میکروبیولوژی مواد غذایی». کتاب، دانشگاه فردوسی مشهد.**

www.SID.ir

Archive of SID

The Effect Of Temperture On Methane Denitrification By Using *Hyphomicrobiom Denitrifican* Strian

Ehsan Bahmani
Department of Biotechnology, Faculty of Chemichal Engeenring, Tarbiat Modares University E-mail: Bahmani_e@yahoo.com

Dr. Mohsen Nosrati
Department of Biotechnology, Faculty of Chemichal Engeenring, Tarbiat Modares University E-mail: *mnosrati20@modares.ac.ir*

Abstract. Water as a constituent that covers three quarters of the total surface of the earth is one of the essential factors for survival. Nitrate has been considered as one of the most important pollutants in drinking water in recent decades. Since the early 1970s, attempts have been made to use methane in the process of bio-treatment of nitrate-contaminated water, which has come to fruition.
One of the important factors in biological processes, such as bio-denitrification, can be temperature. In this study, the effect of temperature on nitrate denitrification of drinking water by methane gas in the presence of *Hyphomicrobiome Denitrifican* strain has been investigated. after the other factors have been kept constant, such as volumetric flow rate, pH, oxidation-reduction potential and return flow. As expected, rising temperatures will increase denitrification rates.

Keywords: biological denitrification; drinking water, *Hyphomicrobiome Denitrification*

www.SID.ir