Treatment of Phenolic Compounds in Olive Mill Wastewater

Alemzadeh, I., and Nazemi, A.R
Biochemical and Bioenvironmental Research Center, Chemical Engineering Dept., Sharif University of Technology, Tehran, Iran

Abstract

Olive contains a series of phenolic compounds that during oil extraction enters olive mill wastewater, and due to its high polluting potential, treatment is always necessary before its discharge into the environment. In this investigation, effect of coupled physico-chemical and biological treatments on the removal of phenolic compounds in olive mill wastewater was studied. Physico-chemical treatment such as filtration, flotation, and coagulation resulted in the COD and total phenols, o-diphenol removal of 65% and 20% respectively. The biological treatment, which was formed in three stages RBC system, removed up to 95% of residual phenolic compounds.

بررسی تصفیه مواد فنلی پساب کارخانه روغن زیتون

(دریافت ۸۰/۶/۲۵ پذیرش ۸۱/۲/۱)

ایران عالم‌زاده* علی‌رضا ناظمی*

چکیده

میوه زیتون حاوی یکسری از ترکیبات فنلی می‌باشد. در حین استخراج روغن از زیتون، این مواد فنلی وارد پساب روغن زیتون شده که برای تخلیه به محیط زیست نامناسب است و باید تصفیه شود. در این تحقیق اثر یک سیستم تصفیه مزدوج فیزیکی- شیمیایی و بیولوژیک در حذف مواد فنلی بررسی شده است. روش‌های فیزیکی- شیمیایی شامل صاف‌کردن، شناورسازی و منعقدسازی است، که حدود ۶۵ درصد COD، ۲۰ درصد از پلی‌فنل‌ها و ارتودی فنل را حذف می‌کنند و روش بیولوژیک که شامل سیستم RBC است، حدود ۹۵ درصد از مواد فنلی باقی‌مانده را حذف می‌کند.

واژه‌های کلیدی: پلی‌فنل، ارتودی فنل، روغن زیتون، سیستم RBC.

مقدمه

میوه زیتون حاوی مقادیر زیادی ترکیبات فنلی می‌باشد. تاکنون بیش از بیست نوع ترکیب فنلی در زیتون شناخته شده است که مهم‌ترین آن‌ها ارتودی فنل[1]، الئوروپین[2]، دی‌متیل الئوروپین[3]، لیگستروزید[4] و ورباسکوزید[5] می‌باشند [۱].

این ترکیبات به خودی خود برای سلامتی انسان هیچ‌گونه ضرری ندارد، ولی گذشت زمان سبب تجزیه آن‌ها به واحدهای فنلی می‌شود که آن‌ها را در گروه مواد خطرناک قرار می‌دهد. البته این مواد پلی‌فنلی تمایل زیادی به انحلال در آب دارند و در طی فرایند استخراج روغن زیتون از میوه زیتون، وارد پساب فرایند شده و فقط مقدار بسیار کمی از آن وارد روغن زیتون می‌شود. مقدار پلی‌فنل ورودی به پساب به نوع و شرایط فرایند اعمال شده بستگی دارد [۱].

ترکیبات فنلی وارد شده در پساب کارخانه به مرور زمان می‌تواند تجزیه شده و حلقه‌های فنلی تولید کند. لذا وارد شدن این پساب بدون تصفیه مواد فنلی به آب‌های طبیعی، اقدامی صحیح نمی‌باشد.

علاوه بر مواد فنلی، دیگر خصوصیات این فاضلاب از قبیل COD، BOD، TOC، TSS، فسفر، نیتروژن آمونیاکی و چربی بسیار بالاتر از حد استاندارد می‌باشد. لذا این پساب احتیاج به یک سیستم تصفیه کامل دارد [۲].

طبق مطالعات قبلی در بخش تصفیه بیولوژیک معمولاً قارچ‌ها توانایی بیشتری در حذف مواد فنلی نشان داده‌اند [۳]. از بین قارچ‌ها نیز معمولاً قارچ‌های آسپرژیلوس تمایل بیشتری به شکستن حلقه فنلی نشان می‌دهند [۴ و ۵].

در این تحقیق حذف مواد فنلی پساب کارخانه روغن زیتون از طریق یک سیستم تصفیه مزدوج فیزیکی- شیمیایی و بیولوژیک مورد بررسی قرار گرفت. از سه روش صاف کردن، شناورسازی و انعقاد شیمیایی به عنوان روش‌های تصفیه غیر بیولوژیک و از سیستم RBC[6] نیز به عنوان روش بیولوژیک استفاده شده است [۶].

* دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه صنعتی شریف

[1] Ortho Diphenol
[2] Oleuropein
[3] Demethyloleuropein
[4] Ligstroside
[5] Verbascoside
[6] Rotating Biological Contactor

جدول ۱- خصوصیات پساب مصرفی.

پارامتر	مقدار
COD	۶۱۶۳۳(mg/lit)
پلی‌فنل‌ها	۱۲۲۱(ppm)
ارتودی فنل	۳۷۱(ppm)
نیتروژن آمونیاکی	۴۳(ppm)
فسفر محلول	۲۳۴(ppm)
چربی	۱۷(gr/lit)
pH	۵/۴۱

مواد و روش‌ها

الف- پساب مصرفی

پساب مصرفی در این پروژه از کارخانه روغن زیتون سفیدرود واقع در گیلان که به روش سانتریفوژ کار می‌کرد تهیه شد. خصوصیات پساب مصرفی در جدول ۱ آورده شده است. در ضمن، اندازه‌گیری کل مواد فنلی بر مبنای ۴ و ۳- دی هیدروکسی بنزوئیک اسید می‌باشد.

ب- عملیات صاف کردن

صاف کردن یا فیلتراسیون توسط یک صافی پارچه‌ای چهار لایه انجام شد.

ج- عملیات شناورسازی

عملیات شناورسازی به صورت منقطع در یک مخزن سه لیتری به مدت دو ساعت توسط یک سنگ هوا به مساحت هوادهی ۵۲ سانتی‌متر مربع انجام شد.

د- عملیات انعقاد شیمیایی

انعقاد شیمیایی به وسیله آزمایش جارتست[1] و بر روی سه ماده منعقد کننده آلوم، بنتونیت و زئولیت انجام شد.

ر- عملیات تلقیح

عملیات تلقیح به وسیله لجن فاضلاب کارخانه روغن زیتون سفیدرود و به صورت کشت مخلوط انجام شد.

ز- عملیات خودهی

عملیات خودهی در طی دو مرحله در راکتور RBC صورت گرفت. عملیات خودهی در مرحله اول توسط گلوکز، نیتروژن و فسفات صورت گرفت. گلوکز توسط ملاس، فسفر توسط فسفات آمونیوم و نیتروژن توسط فسفات آمونیوم و کود اوره تأمین شد. مرحله اول خودهی به صورت منقطع تا COD=۵۰۰۰ در طی مدت ۳۱ روز انجام شد. پس از پایان مرحله اول، مرحله دوم خودهی صورت گرفت به این صورت که به مرور از COD ملاس کم شد و معادل آن COD حاصل از پساب خروجی پس از تصفیه فیزیکی شیمیایی، به آن افزوده گردید. این مرحله ۴۹ روز به طول انجامید و میکروب‌ها تا حدود ۳۰۰ppm از غلظت پلی‌فنل‌های پساب روغن زیتون وفق داده شدند.

س- راکتور RBC[2]

سیستم تماس دهنده بیولوژیک دوار مورد استفاده، شامل یک راکتور RBC سه مرحله‌ای به حجم ۷/۵ لیتر بود که حجم هر سه مرحله برابر و هر یک به میزان ۲/۵ لیتر بود. کل جداره راکتور و هم‌چنین بیودیسک‌های آن از پلکسی گلاس[3] و سطح هر دیسک ۷۱۲/۵cm^2 بود. تعداد کل دیسک‌ها در سه قسمت جمعاً به ۲۴ عدد می‌رسید. راکتور نیز سرعت چرخش ۱۵rpm داشت.

ش- روش تجزیه‌ای

- اندازه‌گیری COD

مقدار COD بر مبنای مقدار اکسیژن معادل با پرمنگنات یا دی کرومات که برای اکسیداسیون مواد آلی در یک محلول اسیدی به کار می‌رود، اندازه‌گیری شد [۷].

[1] Jar test
[2] Rotating Biological Contactor
[3] Plexy Glass

- شناسایی مواد فنلی

استخراج مواد فنلی به این صورت انجام شد که ابتدا نمونه پساب، با اسید کلریدریک تا pH=۲ اسیدی شد. سپس سه بار با اتیل استات در نسبت حجمی برابر استخراج گردید و برای مدت ۳۰ تا ٤۰ دقیقه توسط سولفات سدیم آبگیری شد. در یک تبخیرکن چرخشی[1]، اتیل استات خارج گردید و مخلوط باقی‌مانده در یک مخلوط متانول-آب (٦۰ به ٤۰) حل گردید [٥].

برای شناسایی مواد فنلی به طور متوالی ٥ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم (۲۰۰g/lit) و ۲/٥ میلی‌لیتر معرف فولین[2] به ٥۰ میلی‌لیتر از نمونه افزوده شد. بعد از ٦۰ دقیقه در ۲۰°C جذب، در طول موج ۷۲٥ نانومتر نسبت به محلول شاهد، اندازه‌گیری شد. برای تهیه محلول شاهد، تمام مراحل قبل تکرار گردید با این تفاوت که به جای ٥۰ میلی‌لیتر نمونه، از آب مقطر استفاده شد [۸].

برای اندازه‌گیری ارتودی فنل، ابتدا ۲ میلی‌لیتر محلول ٥ درصد مولیبدات سدیم، در محلول ٥۰ درصد اتانول، به ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه افزوده شد. بعد از پانزده دقیقه، در دمای ۲۰°C جذب، در طول موج ۳۷۰ نانومتر که طول موج ماکزیمم جذب ارتودی فنل می‌باشد، نسبت به محلول شاهد اندازه‌گیری گردید. برای تهیه محلول شاهد به جای نمونه از آب مقطر و به جای مولیبدات سدیم از اتانول استفاده شد.

[1] Rotary Evaporator

[2] Folin-Ciocalteau's Phenol Reagent

نتایج و بررسی

الف- عملیات صاف کردن و شناورسازی

نتایج قبل و بعد از عمل صاف کردن در جدول ۲ آمده است.

با توجه به میزان روغن بالای موجود در پساب کارخانه روغن زیتون پیش‌بینی می‌شد که روش شناورسازی به وسیله عملیات هوادهی روش مناسبی برای کاهش چربی سیستم و بعضی دیگر از آلوده کننده‌ها باشد. نتایج عمل هوادهی در جدول ۳ آورده شده است.

تمامی درصد حذف‌ها بر مبنای پساب خروجی کارخانه محاسبه شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود در روش هوادهی، بازدهی حذف COD تقریباً دو برابر روش صاف کردن است. علت آن می‌تواند میزان روغن بالای موجود در پساب باشد. علت بالا بودن بازده حذف پلی‌فنل‌ها و ارتودی فنل در روش صاف کردن، می‌تواند وجود مواد فنلی در تکه‌های کوچک زیتون در پساب باشد که با روش صاف کردن به راحتی جدا می‌شوند.

ب- عملیات منعقدسازی

عملیات انعقاد توسط سه نوع منعقد کننده آلوم، بنتونیت و زئولیت در pHهای مختلف انجام شد. تغییرات pH توسط آهک اعمال گردید. در جداول ٤ تا ٦ نقش بنتونیت، زئولیت و آلوم (در pHهای مختلف) در ته‌نشین‌سازی و کاهش COD نشان داده شده است.

جدول ۲- نتایج قبل و بعد از عمل صاف کردن.

	COD(mg/l)	(ppm) کل پلی‌فنل‌ها	(ppm) ارتودی فنل
قبل از صاف کردن	٦۱٦۳۳	۱۲۲۱	۳۷۱
بعد از صاف کردن	٥٤۲۳٦	۱۱۰۹	۳٥۹
٪ بازده حذف	۱۲/۰	۹/۱	۳/۲

جدول ۳- نتایج قبل و بعد از عملیات شناورسازی

	COD(mg/l)	(ppm) کل پلی‌فنل‌ها	(ppm) ارتودی فنل
قبل از شناورسازی	٥٤۲۳٦	۱۱۰۹	۳٥۹
بعد از شناورسازی	۳۹۸۷۱	۱۰۸۷	۳٥۲
٪ بازده حذف	۲۳/۳	۱/۸	۱/۹

جدول ٤- اثر بنتونیت در pH و غلظت‌های مختلف.

		درصد حذف COD		درصد حذف کلی پلی‌فنل‌ها		درصد حذف ارتودی فنل	
		pH=٦/٥	pH=۸	pH=٦/٥	pH=۸	pH=٦/٥	pH=۸
بنتونیت (g/lit)	٥	۲٥/٤	۲۲/٤	٥/۸	۸/۲	۷/۳	۸/۸
	۱۰	۲٦/۹	۲۲/۳	٦/۹	۹/۲	۷/٤	۹/٥
	۱٥	۲۹/۷	۲٦/۲	۱۰/۱	۱۰/٥	۱۰/۲	۱۰/۹

جدول ٥- اثر زئولیت در pH و غلظت‌های مختلف.

		درصد حذف COD		درصد حذف کلی پلی‌فنل‌ها		درصد حذف ارتودی فنل	
		pH=٦/٥	pH=۸	pH=٦/٥	pH=۸	pH=٦/٥	pH=۸
زئولیت (g/lit)	٥	۷/۲	۹/٤	٤/۲	٤/۸	۱/۱	۰/٥
	۱۰	۱۳/۲	۱۲/۱	٦/۹	٥/۷	۳	۲/۱
	۱٥	۱۳/٤	۱٦/۷	۸/٤	۹/۱	۳/۱	۲/٥

جدول ٦- اثر آلوم در pH و غلظت‌های مختلف.

		درصد حذف COD		درصد حذف کلی پلی‌فنل‌ها		درصد حذف ارتودی فنل	
		pH=٥/٤۱	pH=۷	pH=٥/٤۱	pH=۷	pH=٥/٤۱	pH=۷
آلوم (ppm)	۱۰۰	٦/۳	۸/۱	۲/٥	۱/٤	۲/۱	۲/٤
	۳۰۰	۱۱/٥	۱۳/۲	۲/۳	۱/۹	۲/۸	۳/۰
	٥۰۰	۱٤/۲	۱۸/۳	۳/۱	۲/۷	۲/۸	۳/۹

جدول ۷- بررسی نتایج آماری تأثیر بنتونیت در pHها و غلظت‌های مختلف بر حذف ارتودی‌فنل، پلی‌فنل و COD.

پارامتر / آلاینده	pH		غلظت بنتونیت(ppm)		
	٦،٥	۸	٥	۱۰	۱٥
درصد حذف ارتودی فنل	۸،۳	۹،۷۳	۸،۰٥	۸،٤٥	۱۰،٥٥
درصد حذف پلی فنل	۷،٦	۹،۳	۷	۸،۰٥	۱۰،۳
درصد حذف COD	۲۷،۳۳	۲۳،٦	۲۳،۹	۲٤،٦	۲۷،۹٥

از مقایسه سه جدول می‌توان دریافت که بهترین اثر مربوط به بنتونیت با غلظت ۱٥g/lit و pH=٦/٥ می‌باشد. خروجی این مرحله دارای COD برابر ۲۱٥٦۳ و مقدار کلی پلی‌فنل ۹٦٤ppm و ارتودی فنل ۳۱٤ppm می‌باشد. مقایسه زئولیت و آلوم نشان می‌دهد که زئولیت نسبت به آلوم، پلی‌فنل‌ها را بهتر و COD را کمتر کاهش می‌دهد.

قابل ذکر است که تمام اندازه‌گیری‌ها به صورت موازی انجام شده و هر یک از ارقام حاصله معدل دو اندازه‌گیری می‌باشد.

با توجه به جداول ٤ تا ٦ مشخص است که اولاً بنتونیت تأثیر بهتری در حذف ارتودی فنل، پلی‌فنل‌ها و COD نسبت به زئولیت و آلوم داشته است. در ضمن

pH=۸ در حذف ارتودی فنل و کل پلی‌فنل‌ها مناسب‌تر و pH=٦/٥ در مورد حذف COD تأثیر بهتری نشان داده است. میانگین آماری در دوره تأثیر بنتونیت در حذف آلاینده‌ها در جدول ۷ مشاهده می‌شود. این میانگین به صورت عمودی، که نشان دهنده تأثیر pH مناسب و به صورت افقی، که نشان دهنده تأثیر غلظت بنتونیت در حذف آلاینده‌هاست محاسبه شده است.

نتایج جدول ۷ حاکی از آن است که pH بهینه در حذف ارتودی فنل و پلی‌فنل‌ها ۸ می‌باشد و در مورد COD، pH ٥ و ٦ مناسب‌تر است. در ضمن غلظت مناسب بنتونیت در حذف تمام آلاینده‌ها ۱۵ppm است.

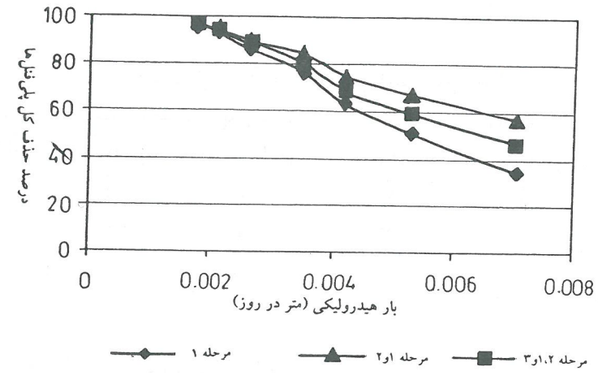
البته برای منعقد کننده‌های دیگر مانند زئولیت و آلوم نیز می‌توان جداول مشابهی تهیه نمود، لیکن از آنجا که نتایج بنتونیت از زئولیت و آلوم قابل توجه‌تر است، لذا از آن دو مورد صرف نظر گردید.

ج- تصفیه بیولوژیک

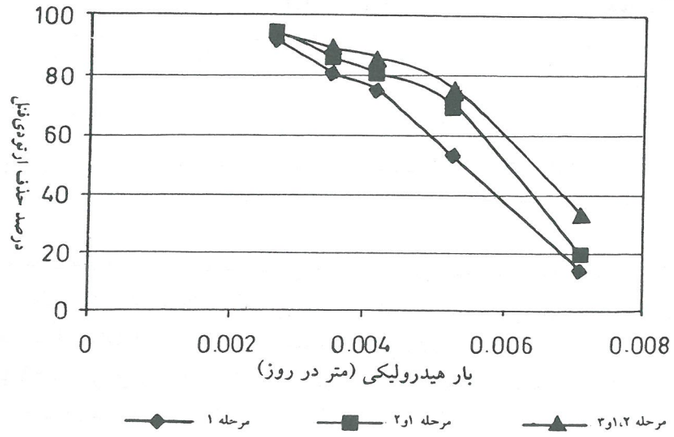
عملیات تصفیه بیولوژیک توسط RBC در دو COD ورودی ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ برای زمان ماندهای مختلف بررسی شد. ورودی سیستم RBC در واقع پساب تصحیح شده توسط تصفیه فیزیکی- شیمیایی بود که پس از رقیق شدن وارد سیستم گردید.

COD- ورودی ۲۵۰۰

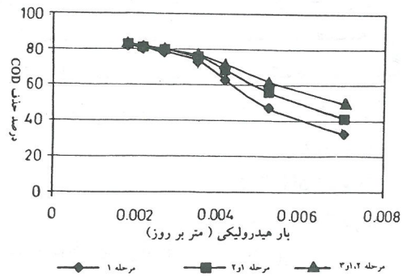
برای COD ورودی ۲۵۰۰، درصد حذف پلی‌فنل، ارتودی فنل و COD بر حسب بار هیدرولیکی بررسی شدند که در نمودارهای ۱ تا ۳ آورده شده است.



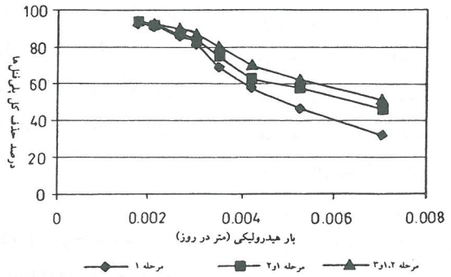
شکل ۱- درصد حذف کل پلی‌فنل‌ها نسبت به بار هیدرولیکی در COD ورودی ۲۵۰۰.



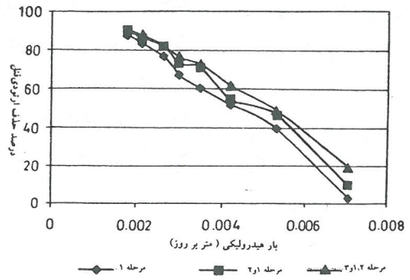
شکل ۲- درصد حذف ارتودی فنل نسبت به بار هیدرولیکی در COD ورودی ۲۵۰۰.



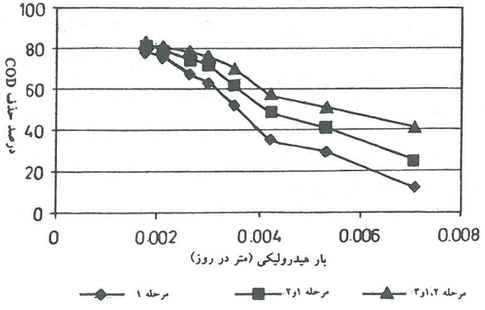
شکل ۳- درصد حذف COD نسبت به بار هیدرولیکی در COD ورودی ۲۵۰۰.



شکل ٤- درصد حذف کلی پلی‌فنل‌ها نسبت به بار هیدرولیکی در COD ورودی ۵۰۰۰.



شکل ٥- درصد حذف ارتودی فنل نسبت به بار هیدرولیکی در COD ورودی ۵۰۰۰.



شکل ٦- درصد حذف COD نسبت به بار هیدرولیکی در COD ورودی ۵۰۰۰.

با توجه به سه نمودار، مشخص است که ماکزیمم درصد حذف مواد فنلی، بالاتر از ماکزیمم درصد حذف COD می‌باشد. این موضوع بیانگر آن است که میکروارگانیسم‌های موجود بر روی بیوفیلم تمایل به حذف فنل بالایی دارند.

- COD ورودی ۵۰۰۰

برای COD ورودی ۵۰۰۰، درصد حذف پلی‌فنل، ارتودی فنل و COD بر حسب بار هیدرولیکی بررسی شده‌اند که در نمودارهای ٤ تا ٦ آورده شده‌اند.

در این حالت نیز همان‌گونه که مشاهده شد، درصد حذف پلی‌فنل‌ها بیشتر از درصد حذف COD می‌باشد، ولی نکته‌ای که در اینجا مشاهده شد. این بود که افزایش همزمان بار آلودگی و بار فنلی، درصد حذف پلی‌فنل‌ها و COD را کاهش داد.

- بیوفیلم سیستم RBC

تحقیق انجام شده نشان داد که در مرحله مداوم، وزن توده میکروبی در مرحله اول ۱۰/٤mg/cm^2، در مرحله دوم ٦/۱mg/cm^2 و در مرحله سوم ٤/۱mg/cm^2 می‌باشد. همان‌طور که مشاهده گردید وزن توده میکروبی در مرحله اول، تقریباً به اندازه مجموع مراحل دوم و سوم بوده است که خود می‌تواند دلیل قاطعی بر بالا بودن حذف در مرحله اول باشد. بررسی میکروسکوپی بیوفیلم حاکی از آن بود که میکروارگانیسم‌های بیوفیلم بیشتر از جنس قارچ آسپرژیلوس می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق یک سیستم RBC با دور بهینه ۱۵rpm، به منظور حذف بیولوژیک مواد فنلی از پساب کارخانه روغن زیتون، مورد بررسی قرار گرفت. پیش از تصفیه بیولوژیک، یک پیش تصفیه فیزیکی-شیمیایی روی سیستم صورت گرفت که حدود ٦۵ درصد از COD و ۲۰ درصد از مواد فنلی را حذف کرد. همان‌طور که مشاهده شد روش‌های فیزیکی-شیمیایی با آن که حدود ٦۵ درصد از COD را حذف می‌کنند، توانایی حذف بیش از ۲۰ درصد از مواد فنلی را ندارند که در این موقعیت نیاز به یک سیستم تصفیه بیولوژیک برای حذف مواد فنلی احساس می‌شود. مسئله دیگری که بررسی شد اثر انواع مواد منعقد کننده از قبیل زئولیت، بنتونیت و آلوم در pHهای مختلف بود و همان‌طور که دیده شد، بنتونیت با غلظت ۱۵g/lit و pH=٦/۵ (توسط آهک) بازده نسبتاً خوبی از خود نشان داد (حدود ۳۰ درصد کاهش COD و ۱۰درصد کاهش مواد فنلی).

در مرحله تصفیه بیولوژیک مشاهده شد که در زمان ماندهای بالا بیشتر حذف مواد فنلی و COD، در مرحله اول صورت می‌گیرد و با کاهش زمان ماند، حذف در مرحله اول کاهش یافته و به مرحله دوم منتقل می‌شود. هم‌چنین با افزایش بار آلودگی، حذف مواد فنلی در زمان ماندهای بالاتر به مرحله دوم منتقل می‌شود و با افزایش همزمان بار آلودگی و بار فنلی درصد حذف COD و مواد فنلی کاهش می‌یابد که حود بیانگر این موضوع است که سیستم RBC توانایی تحمل بار آلودگی بالا را ندارد.

در هر دو بار آلودگی یعنی COD=۲۵۰۰ و COD=۵۰۰۰، درصد حذف مواد فنلی بیشتر از درصد حذف COD می‌باشد. این موضوع بیانگر آن است که میکروارگانیسم‌های پرورش یافته در سیستم RBC موجود بیشتر تمایل به حذف مواد فنلی دارند. بررسی میکروسکوپی توده بیوفیلم، نشان داد که اغلب میکروارگانیسم‌ها از جنس قارچ آسپرژیلوس بوده و از نظر حذف مواد فنلی پساب کارخانه روغن زیتون با تحقیقات قبلی انجام شده، مطابقت دارد یعنی اغلب گونه‌های قارچ آسپرژیلوس توانایی حذف مواد فنلی پساب کارخانه روغن زیتون را دارند. علت این که در این سیستم‌ها تعداد قارچ‌ها زیاد و تعداد باکتری‌ها کم است، پایین بودن pH این فاضلاب می‌باشد که برای باکتری‌ها نامناسب است. دو برابر شدن تقریبی وزن توده میکروبی مرحله اول سیستم RBC نسبت به مرحله دوم و سوم پس از مداوم شدن سیستم بیانگر مناسب بودن این پساب به عنوان خوراک مغذی برای قارچ‌های آسپرژیلوس می‌باشد.

منابع و مراجع

1- Harwood, J. (2000). *"Handbook of oil "*, Gaithersburg-Maryland,Aspen Publishers, Inc.

2- Beccari, M., Majon, M., Riccardi, C., Savarese, F., and Torrisi, L. (1999*). " Integrated Treatment of Olive Oil Mill Effluents : Effect of Chemical and Physical Pretreatment on Anaerobic Tretability "*, Wat. Sci. Tech., Elsevier Science Publishers Ltd., 40(1), 347-355.

3- Schober, G., and Trosch, W. (2000). *" Degradation of Digestion Residues by Lingolytic Fungi"*, Wat. Res., Elsevier Science Ltd., 34 (13) 3424-3430.

4- Borja, R., Garrido S.E., Martinez L., Ramos A., and Martin A. (1993). *"Kinetic Study of Anaerobic Digestion of Olive Mill Wastewater Previously Fermented with Aspergillus Terreus"*, Process Biochemistry, Elsevier Scinece Ltd., No. 28,397-404.

5- Garcia, G., Jimenez, P.R., Venceslada, J.L., Martin, A., Santos, M.A., and Gomez, E. (2000). *"Removal of Phenol Compounds from Olive Mill Wastewater Using Phanerochaete Chrysosporium, Aspergillus Niger, Aspergillus Terreus and Geotrichum Candidum"*,Process Biochemistry, Elsevier Science Ltd., No. 35,751-758.

6- Metcalf & Eddy Inc. (1991). *"Wastewater Engineering : Treatment, Disposal and Reuse"*, Third Edition, McGraw-Hill, USA.

7- APHA Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, (1998). 20th Ed.,. American Public Health Association, Washington D.C.

8- Box, J.D. (1983). *" Investigation of the Folin-Ciocalteau Phenol Reagent for the Determination of Poly Phenolic Substances in Natural Waters"*, Water Res., 17(5), 511-525.