

EFFECTS OF NITROPHENOLS ON ACETATE UTILIZING METHANOGENIC SYSTEMS

M. R. Haghghi

S.K. Bhattacharya

Abstract

Nitrophenols are widely used for manufacturing explosives, pharmaceuticals, pesticides, pigments, dyes, etc. A literature research shows that there is a lack of quantitative information on the effects of nitrophenols on anaerobic systems. The objective of this research was to study the toxic effects of nitrophenols on acetate enrichment, methanogenic systems. Anaerobic toxicity assays were performed with batch serum bottles. Results showed that among the selected nitrophenols, toxicity decreases in the following order: 2,4- dinitrophenol > 4- nitrophenol > 2-nitrophenol > 3-nitrophenol. Complete removals of mononitrophenols were seen in serum bottle systems which did not fail due to toxicity. Chemostats (15-day retention time) were used to study toxicity, acclimation, and removal of 4-nitrophenol in continuous systems. New steady-states with high effluent acetate (substrate) concentrations were attained after spiking 5.5, 13.5, and 33.0 mg l⁻¹ of 4- nitrophenol. A competitive inhibition coefficient model fits well with the experimental data from 4- nitrophenol studies. The competitive inhibition coefficient k_I , for 4- nitrophenol varied between 0.077 and 0.089 mg l⁻¹. Fifty-five to 82% of the 4- nitrophenol was removed in the chemostats; HPLC analysis of effluents showed no intermediate products.

اثرات نیترو فنلها

بر روی سیستمهای متان ساز استفاده کننده استات

محمد رضا حقیقی*
سنجوی باتاچاریا**



چکیده:

نیتروفنلها در صنایع نظامی، داروسازی، آفت کشها، رنگ و غیره کاربرد بسیار دارد. براساس تحقیقات موجود هیچگونه اطلاعات کمی در مورد اثرات سمی نیتروفنلها بر روی باکتریهای متان ساز^۱ در سیستمهای بیهواری موجود نمی باشد. هدف از این تحقیق مطالعه و بررسی اثرات سمی نیتروفنلها بر روی سیستمهای تصفیه بیهواری توسط باکتریهای متان ساز بوده است.

آزمایشات (Anaerobic Toxicity Assay) ATA با استفاده از روش بطریهای سرمی انجام و نتایج نشان می دهد که میزان سمیت نیتروفنلهای مطالعه شده در این تحقیق به ترتیب زیر کاهش می یابد.

نیتروفنل -۳ > نیتروفنل -۲ > نیتروفنل -۴ > دی نیتروفنل -۲ و ۴

راکتورهای دولتری^۲ با S.R.T، ۱۵ روز برای مطالعه سمیت نیتروفنلها مورد استفاده قرار گرفت. حد جدید پایداری^۳ بعد از اضافه کردن نیتروفنل -۴ با غلظتهای ۵/۵، ۱۳/۵ و ۳۳ میلی گرم در لیتر مشاهده گردید. با استفاده از یک مدل بیوشیمی تحت عنوان مدل ضریب منع رقابت^۴ میزان مقاومت باکتریهای متان ساز در مقابل سمیت نیتروفنلها یا K_I تعیین شد که بین ۰/۰۷۷ و ۰/۰۸۹ میلی گرم در لیتر متغیر بود. این مطالعه نشان داد که ۸۲-۵۲ درصد از نیتروفنل -۴ اضافه شده در راکتورهای آزمایشگاهی کاملاً مورد تجزیه بیوزیستی^۵ قرار گرفت. نتایج آنالیز HPLC بر روی پساب خروجی راکتورها هیچگونه ماده شیمیایی واسطه ای^۶ را نشان نمی دهد.

مقدمه

نیتروفنلها از مهمترین مواد شیمیایی آلی صنعتی هستند که در تولیدات مواد منفجره، داروسازی، حشره کشها، رنگ و غیره کاربرد دارند. نیتروفنلها می توانند به طور غیر عمدی به وسیله هیدرولیز میکروبی چندین نوع آفت کش فسفر آلی دار مانند پاراتیون، [۱۰] یا فتو تجزیه آفت کشها که دارای مقداری نیتروفنل هستند، در محیط تولید شوند [۵]. نیتروفنلها همچنین در نتیجه پروسه های طبیعی در بیوسفر یافت شده و هم اکنون از آلوده کننده ها در اکوسیستمهای کشورهای توسعه یافته

به شمار می آید [۲].

در بین منونیتروفنلها، نیتروفنل -۴ بیشترین مصرف را دارد و از آلوده کننده های پتانسیل دار محیط زیست می باشد. نیتروفنل -۴ می تواند از طریق واکنشهای فتوشیمیایی بین بنزین و منواکسید نیتروژن تولید گردد و در

*- استادیار دانشکده مهندسی عمران و محیط زیست، دانشگاه صنعتی اصفهان
**- دانشیار دانشکده مهندسی عمران و محیط زیست، دانشگاه تولین، امریکا

- 1- Methanogens
- 2- Chemostat
- 3- New steady state
- 4- Competitive inhibition coefficient
- 5- Biodegradation
- 6- Intermediate

بارندگیهای ژاپن هم اندازه گیری شده است [۵]. آمار موجود نشان می دهد که عموم مردم در معرض خطر آلودگی نیتروفنلها در اتمسفر بخصوص محلهایی که مه فتوشیمیایی تشکیل می شود قرار دارند، [۱۱] از شش ایزومر موجود دی نیتروفنل، دی نیتروفنل ۲ و ۴ بیشترین مصرف تجاری را دارد و به عنوان ترکیبات اولیه تولید مواد منفجره، رنگ، صنایع چوب و غیره استفاده می شود. نیتروفنل -۲، نیتروفنل -۴ و دی نیتروفنل -۲ و ۴ در لیست آلوده کننده های اولیه سازمان حفاظت محیط زیست امریکا قرار دارد. این سازمان توصیه کرده است که غلظت آنها در آبهای طبیعی بایستی به کمتر از ۱۰ ng/l کاهش یابد [۶].

براساس قوانین سازمان مذکور صنایع بایستی قبل از تخلیه فاضلاب به وسیله روشهای تصفیه پیش مقدماتی غلظت نیتروفنلها را به حد استاندارد مورد نظر برسانند. نیتروفنلها می توانند بر روی میکروارگانیسمها و باکتریهای ایجاد سمیت کنند. سمیت نیتروفنلها بر روی باکتریهای بیهواری ممکن است به دلیل اضافه داشتن یک یا بیشتر گروه نیترو ($-NO_2$) بر روی مولکول فنل باشد.

در مطالعات بطری سرمی در شرایط مورد مطالعه یک لیست عناصر آلی مورد تجزیه بیوشیمیایی بیهواری، نیتروفنل -۳، نیتروفنل -۴ و دی نیتروفنل -۲، ۴ به عنوان متوقف کننده رشد گزارش شد [1] اثرات نیتروفنل -۲، ۴، نیتروفنل -۴ و دی نیتروفنل -۲، ۴ در آزمایشهای بیهواری سمی (ATA) و در یک ستون بیهواری با جریان بالارونده با استفاده از تقویت استات مورد مطالعه قرار گرفت و منع برگشت پذیر در بطریهای سرمی برای نیتروفنل -۲ و نیتروفنل -۴ و منع برگشت ناپذیر برای دی نیتروفنل -۲، ۴ که با غلظت ۲۰ mg/l اضافه شده بودند را نتیجه گیری کرد [9]. براساس مطالعات موجود، اطلاعات کمی در مورد اثرات سمی نیتروفنلها در سیستمهای بیهواری وجود ندارد. در مورد مکانیزم سمی بودن این عناصر آلی به اطلاعات بیشتری نیاز است. این پروژه تحقیقاتی به منظور ارائه اطلاعات در این خصوص انجام شده است.

مدل منع رقابت

مدل ضریب منع رقابت که توسط پارکین و اسپیس [۱۳] توضیح داده شده است جهت بررسی اثرات کمی نیتروفنل -۴ در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت. باتاچاریا و پارکین [۳] نشان دادند که سمی بودن فرمالوئید با مدل ضریب منع رقابت به خوبی مطابقت دارد. با منع رقابت، غلظت مواد غذایی جریان خروجی به تدریج افزایش یافته و به یک حالت پایدار جدید می رسد. معادلات برای سرعت مصرف مواد غذایی و رشد باکتری به شرح ذیل می باشند:

$$\frac{-ds}{dt} = kSX_a / [k_s(1+T_x/k_I) + S] \quad (1)$$

$$\frac{dX_a}{dt} = YkSX_a / [k_s(1+T_x/k_I) + S] - bX_a \quad (2)$$

در معادلات مذکور، $\frac{dS}{dt}$ سرعت مصرف مواد غذایی در واحد حجم ($gm^{-3}d^{-1}$)، $\frac{dX_a}{dt}$ سرعت رشد باکتری ($gm^{-3}d^{-1}$)، S غلظت مواد غذایی (gm^{-3})، X_a غلظت توده باکتری فعال (gm^{-3})، Y ضریب حاصل رشد (gg^{-1})، b ضریب تنزل میکروباکتری (d^{-1})، T_x غلظت سم (gm^{-3})، k سرعت ویژه مصرف مواد غذایی ($gg^{-1}d^{-1}$)، k_s ضریب نیمه اشباع (gm^{-3}) و k_I ضریب منع (gm^{-3}) می باشند. معادلات سیستم با استفاده از موازنه مواد غذایی و توده باکتری برای یک راکتور دولتری به شرح ذیل می باشد:

$$\frac{dS}{dt} = [(S_0-S)/\theta] - kSX_a / [(k_s*A) + S] \quad (3)$$

$$\frac{dX_a}{dt} = YkSX_a / [(k_s*A) + S] - X_a(1/\theta + b) \quad (4)$$

در معادلات مذکور، S_0 غلظت مواد غذایی در جریان ورودی (gm^{-3})، θ معادل HRT یا SRT و A معادل $1 + (T_x/k_I)$ می باشند.

اهداف

اهداف ویژه این تحقیق عبارت بودند از: الف - مشخص نمودن اثرات نیتروفنلها (نیتروفنل -۲، نیتروفنل -۳، نیتروفنل -۴، و دی نیتروفنل -۲، ۴) بر باکتریهای متان ساز مصرف کننده استات، ب - مشخص نمودن مقدار تجزیه بیوزیستی بیهواری نیتروفنلها و ج - اندازه گیری کمی اثرات نیتروفنل -۴ بر باکتریهای متان ساز با استفاده از مدل ضریب منع رقابت.

بطریهای سرم ناپیوسته^۱ برای مطالعه اثرات نیتروفلزهای انتخابی و راکتورهای دو لیتری برای مطالعه اثرات نیتروفلز -۴ مورد استفاده قرار گرفتند. نیتروفلز -۴ به علت این که مهمترین ماده سمی در بین نیتروفلزهای انتخابی است، برای اهداف این پروژه در نظر گرفته شد. به دلیل این که تولید تقریباً ۷۰٪ متان در سیستمهای بیهوازی از طریق استفاده از استات به عنوان ماده کلیدی واسطه‌ای است، باکتریهای متان‌ساز مصرف کننده استات مورد مطالعه قرار گرفت. باکتریهای مذکور مورد آسیب بسیاری از مواد سمی قرار می‌گیرد و تشکیل متان از استات در شرایط غیر سمی و سمی می‌تواند مرحله محدود کننده سرعت واکنش باشد [۱۳].

کشت مایه

مایه کشت تقویت استات از لجن غیرهوازی که از اسیداستیک به عنوان تنها منبع کربن استفاده می‌کند، تولید شد. این کشت در ظروف پلاستیکی ۲۰ لیتری و در درجه حرارت ثابت اتاق (۳۵°C) و در شرایطی که به طور روزانه pH، اسیدهای فرار و قلیائیت کلی اندازه‌گیری می‌شد، انجام شده است. هر هفته COD، مواد جامد معلق (TSS) و مواد جامد معلق فرار (VSS) برای بررسی پایداری کشت تقویتی اندازه‌گیری می‌شد.

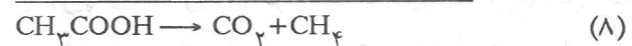
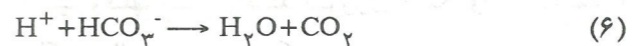
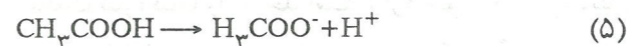
آزمایش سمی بیهوازی (ATA)

آزمایش ATA با استفاده از بطریهای سرم انجام شد [۱۲]. بطریهای سرم به طریق بیهوازی با استفاده از کشت مایه بذرافشانی شد. در مرحله اول، بطریهای تمیز سرم (۱۵۰ میلی لیتر) با آب پر شد و سپس با گاز N₂ جابجا گشت. سپس سر بطریها با سرپوشهای لاستیکی به منظور تأمین شرایط بیهوازی بسته شد. به هر یک از بطریهای آماده شده، ۴۵ میلی لیتر از کشت تقویت استات، ۳ میلی لیتر مواد غذایی [۳] و ۲ میلی لیتر خمیر مایه (غلظت ۵۰ g l⁻¹ مایه) با استفاده از سرنگ به طریق بیهوازی اضافه

گشت. برای هر آزمایش، از سه بطری کنترل و آزمایش استفاده شد. اضافه نمودن مواد غذایی ۱۰۵۰ mg l⁻¹ d⁻¹ به بطری سرم با اضافه کردن ۵۰ ml اسیداستیک به طور روزانه با استفاده از یک سرنگ میکرولیتر همیلتون^۲ تأمین شد. ولی، به منظور کنترل مقدار استات در دبی ۱۰۵۰ mg l⁻¹ در زمان منع، خوراک روزانه اسیداستیک به شرح ذیل محاسبه شد:

$$(50/22) \text{ (خوراک روز قبل)} (22/50) - \text{تولید گاز} = \text{خوراک روزانه}$$

بطریها در درجه حرارت ثابت ۳۵°C نگهداری و مقدار کل گاز تولیدی به وسیله دستگاه جابجایی گاز به طور روزانه اندازه‌گیری شد. دستیابی به حالت پایدار با تغییر ۱۰٪ در گاز تولیدی براساس ضریب استوکیومتری برای حداقل یک هفته تعریف گردید. تخمین تولید متان براساس معادلات ذیل است:



براساس استوکیومتری، اگر ۱۰۵۰ mg l⁻¹ از اسیداستیک به ۵۰ ml اضافه شود، ۴۴ ml گاز تولید می‌گردد (۲۲ ml CO₂ و ۲۲ ml CH₄). مقدار متان تولیدی با کم کردن ۲۲ ml دی‌اکسید کربن از تولید کلی گاز محاسبه شده است. از فرضیه تولید ۲۲ ml دی‌اکسید کربن به طرز شیمیایی و به طور دائم تا هنگامی که قلیائیت بی‌کربنات وجود دارد، استفاده شده است (معادله ۶).

از مقادیر اندازه‌گیری شده نیتروفلزها (مورد تأیید کمپانی آلدریج)^۳ به عنوان سم استفاده گردید. وقتی که بطریهای سرم به حالت پایدار رسیدند، غلظت‌های متفاوتی از نیتروفلز -۲، نیتروفلز -۳، نیتروفلز -۴ و دی‌نیتروفلز -۴، ۲ به بطریهای آزمایش اضافه گردید. بطریهای سرم تا هنگام توقف سیستم یا عدم مشاهده تغییرات برای چند

1- Batch
2- Hamilton
3- Aldrich

روز نگهداری شد. غلظت قلیائیت طراحی شده بی‌کربنات برابر ۵۰۰ mg l⁻¹ بود. در نتیجه، مشکلات pH فقط وقتی که تجمع اسیداستیک از قلیائیت تجاوز می‌کرد، مورد انتظار بود.

مطالعات راکتورهای دولیتری

راکتورهای دولیتری برای مطالعه اثرات نیتروفلز -۴ مورد استفاده قرار گرفت. این راکتورهای دولیتری از بطریهای شیشه‌ای محتوی ۱/۵ لیتر کشت تقویت استات ساخته شده بود. زمان ماند ذرات و زمان ماند هیدرولیک (SRT/HRT) با استفاده از دبیهای ۱۰۰ ml d⁻¹، برابر ۱۵ روز طراحی شد. از پمپهای کاست (کمپانی مانوستات^۱، نیویورک) جهت تأمین خوراک مداوم استفاده گردید. فعالیت پمپ بر اثر فشار استوانه‌های در حال گردش بر لوله‌ها میسر می‌شد. دبی پمپ متناسب با سرعت استوانه‌ها و قطر داخلی لوله که هر دو قابل تغییر بودند، است. هر پمپ کاست برای تأمین خوراک یک راکتور دولیتری مورد استفاده قرار گرفت. قطر لوله (لاستیک سیلیکان، ۱/۱۶ اینچ) برای همه دبیها ثابت و لیکن سرعت اهرم برای تولید دبی مورد نیاز کنترل می‌گردید و در یک هفته دو الی سه مرتبه قطر لوله و سرعت اهرم برای تأمین سرعت خوراک ثابت ثبت می‌شد. راکتورهای دولیتری به طریق بیهوازی از کشت مایه تلقیح شد. نخست بطریهای شیشه‌ای تمیز از آب پر شده و سپس با گاز N₂ جابجا گردید. کشت تقویت استات (۱/۵ لیتر) از مایه با جابجا نمودن گاز به بطریها منتقل شد. در طی ۳-۴ روز اولیه، بدون استفاده از پمپها خوراک مواد غذایی و استات در شرایط ناپیوسته برای سیستم تأمین شد. خمیر مایه نیز در طی این مدت به عنوان منبع اضافی مواد معدنی و ویتامینها به راکتورها منتقل گشت. پس از ۳-۴ روز، سیستمها به شرایط جریان مداوم تغییر یافت. قلیائیت بی‌کربنات طراحی شده برابر ۵۰۰ mg l⁻¹ بود.

راکتورهای دولیتری برای حداقل سه زمان ماند (نمونه ۴۵ روز) جهت دستیابی به حالت پایدار نگهداری شدند.

حالت پایدار به صورت اختیاری به عنوان تغییر استات، TSS, VSS و درصد متان در حد ۱۵٪ از مقادیر میانگین برای حداقل یک هفته تعریف شد. مقادیر پارامتر سیتیک خط پایه (غیر سمی) (b=۰/۰۱ d⁻¹, K_s=۱۰ mg l⁻¹, k=۳/۱ d⁻¹) از شرایط حالت پایدار و Y به طریق ترمودینامیکی (۰/۰۴) محاسبه شدند [۸]. ماده سمی (نیتروفلز -۴) به بطری خوراک و همچنین برای یک بار به راکتورهای دولیتری اضافه گردید. این مقدار ترکیبی باعث تحریک و افزایش ناگهانی در غلظت نیتروفلز -۴ نسبت به اندازه طراحی شده گردید. این روش فرصت عادت کردن به شرایط را به ارگانیزمها نمی‌دهد. معادلات (۳) و (۴) برای مقدار ترکیبی بدست آورده شده است. با تغییر این معادلات می‌توان انواع دیگر تزریق کردن از قبیل اضافه نمودن تدریجی غلظت یک سم را در یک راکتور با اضافه کردن سم فقط به بطریهای خوراک شبیه سازی کرد [۳].

روشهای تحلیلی

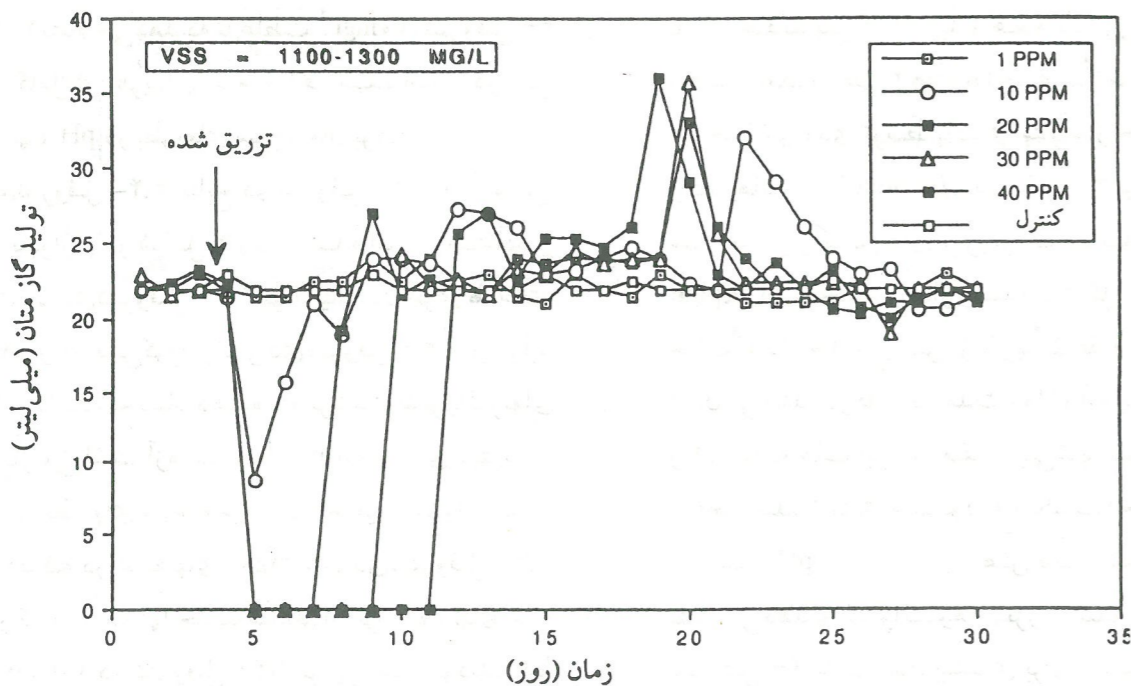
در جدول ۱ روش مورد استفاده برای اندازه‌گیری پارامترهای مختلف ذکر شده است. اسیدهای فرار (VA) با روش کروماتوگراف گاز یا تیتراسیون اندازه‌گیری شد [۷]. آنالیز کروماتوگرافی گاز به وسیله Shimudza GC-۱۴ A انجام گردید. ستون آنالیز گاز کروماتوگراف از یک ستون شیشه‌ای با اندازه‌های ۳mm قطر داخلی و ۱/۷m طول که با ۵۰ گرم فاز جامد کربن (60/80 mesh) و فاز مایع H₃PO₄ ۲۰M/۰/۱ PEG پر می‌شود، تشکیل شده است. درجه حرارت ستون برابر ۱۲۰°C (ایزوترمال) و از گاز هیلیموم در فشار ۲ kgm⁻² به عنوان گاز ناقل استفاده شد. درجه حرارت نمایان کننده مواد که از نوع یونیزه حرارتی (FID) است برابر ۲۰۰°C مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌های آزمایش با عبور از میکروفیلتر شیشه‌ای واتمن (Whatman ۹۳۴ -AH/۰/۴۵ μm)، جهت جداسازی باکتری آماده گردید. سپس نمونه‌های آزمایش با اسید

1- Manostat
2- Jenkins et al, 1983

جدول ۲: اثر نیتروفلن ۲- بر باکتریهای متان‌ساز در سیستمهای حاوی استات

تزیق شده (PPM)	pH نهایی	VSS* نهایی	بازیاب (روز)	درصد حذف
کنترل	۷/۳	۱۴۹۲	N/A	N/A
کنترل	۷/۱	۱۵۷۵	N/A	N/A
کنترل	۷/۰	۱۴۶۰	N/A	N/A
۱	۷/۳	۱۳۲۰	۱۰۰	-
۱	۷/۲	۱۴۰۰	۱۰۰	-
۱	۷/۳	۱۳۴۰	۱۰۰	-
۱۰	۷/۰	۱۴۴۰	۱۰۰	-
۱۰	۷/۱	۱۳۱۸	۱۰۰	-
۱۰	۷/۰	۱۴۳۴	۱۰۰	-
۲۰	۷/۲	۱۲۸۸	۱۰۰	۳
۲۰	۷/۰	۱۳۰۴	۱۰۰	۳
۲۰	۷/۰	۱۲۲۶	۱۰۰	۳
۳۰	۷/۰	۱۳۵۴	۱۰۰	۵
۳۰	۶/۹	۱۲۶۲	۱۰۰	۵
۳۰	۷/۰	۱۱۱۲	۱۰۰	۵
۴۰	۷/۰	۱۲۳۰	۱۰۰	۷
۴۰	۶/۸	۱۲۰۴	۱۰۰	۷
۴۰	۷/۰	۱۰۶۲	۱۰۰	۷

VSS = مواد جامد معلق فرار = بی تأثیر



شکل ۱: اثرات نیتروفلن ۲- بر باکتریهای متان‌ساز در سیستمهای حاوی استات

فرمیک به حد $pH < 2$ اسیدی شده و $1-5 \mu\text{l}$ نمونه به دستگاه GC تزریق گردید. آب برای رفع منحنیهای غیر واقعی در بین نمونه‌های آزمایش به GC تزریق شد. آنالیز VA با روش تیتراسیون با $0.2\% \text{NH}_4\text{SO}_4$ با دو نقطه انتهایی $pH=5/7$ و $pH=3/7$ انجام شد [۸].

جدول ۱: خلاصه روشهای استفاده شده

روشها	پارامترها
تیتراسیون (جنکینز و همکاران)	کل اسیدهای فرار
تیتراسیون (جنکینز و همکاران)	قلیائیت (بیکربناتها)
روش ۴۲۳ (استاندارد متد)	مواد معلق فرار
روش ۲۰۹C (استاندارد متد)	کل مواد معلق
روش HACH	COD
گاز کروماتوگرافی (GC) با TCD	ترکیبات گاز
گاز کروماتوگرافی (GC) FID	استات
مایع کروماتوگرافی (HPLC)	نیتروفلن

نتایج و بحث

آزمایش سمی غیرهوازی

نیتروفلن ۲: اثرات ۱، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ میلی‌گرم در لیتر نیتروفلن ۲- بر تولید متان در شکل ۱ نشان داده شده است. استفاده از 1 mg l^{-1} به هیچ وجه تأثیری بر تولید متان نداشت که این نمایانگر عدم اثر منفی بر باکتریهای متان‌ساز می‌باشد. استفاده از 10 mg l^{-1} کاهش در تولید متان در مقایسه با نمونه‌های کنترل در دو روز اولیه بعد از نشانه‌گذاری مشاهده می‌شود. اثر منع با استفاده از 20 mg l^{-1} در سه روز اولیه مشاهده گردید. با استفاده از 30 mg l^{-1} اثر منع برای ۵ روز و با استفاده از 40 mg l^{-1} اثر منع برای ۷ روز بعد از نشانه‌گذاری ادامه داشت. در پایان آزمایش، نمونه‌ها از بطریهای سرم خارج گردیده و با استفاده از HPLC برای نیتروفلن ۲- آنالیز شدند. نتایج برای نیتروفلن ۲- در جدول ۲ آورده شده است. نیتروفلن ۲- به‌طور کامل از بطریهای سرم خارج گردید به نحوی که اثری از آن در بطریها تشخیص داده نشد. در پایان آزمایش،

1- Waters Company

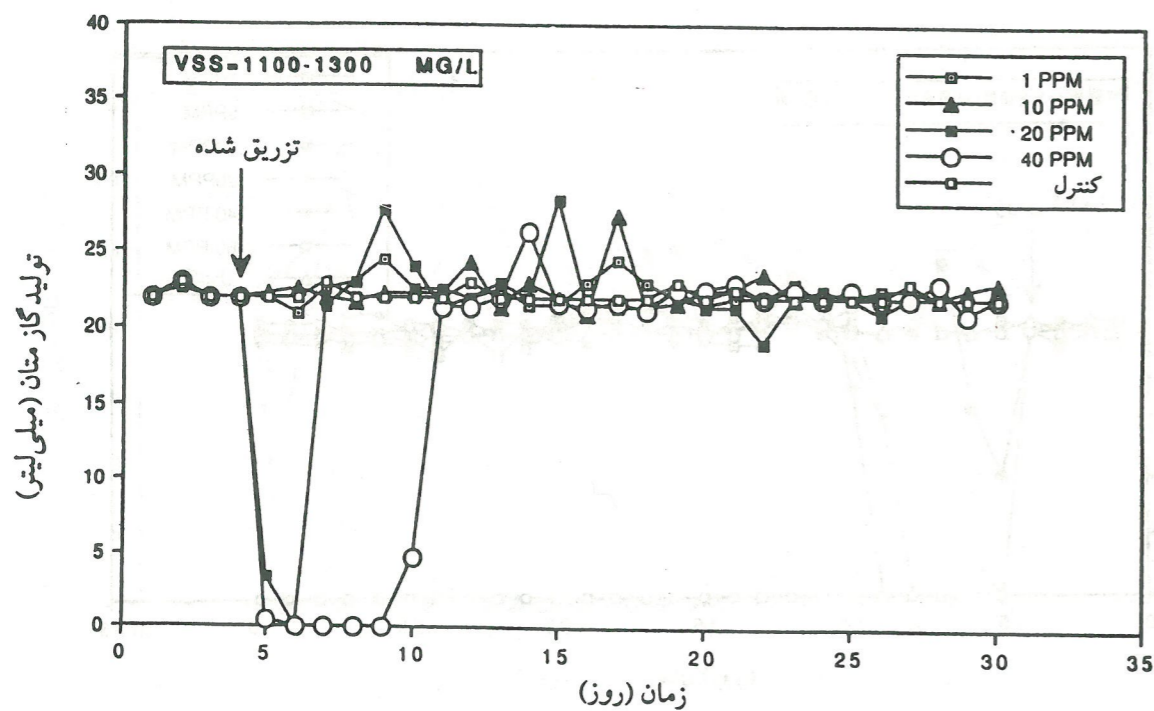
مقادیر جامدهای معلق کل (TSS) و جامدهای معلق فرار (VSS) براساس روش ۲۰۹B در روشهای استاندارد [۱۵] اندازه‌گیری گردید. قبل از فیلتراسیون، فیلترهای فیبر شیشه‌ای (Whatman ۹۳۴-AH) در یک کوره با درجه حرارت 550°C برای ۱۵ دقیقه جهت حذف هرگونه مواد فرار از روی فیلترها، قرار داده شد.

از یک HPLC واترز برای اندازه‌گیری غلظتهای نیتروفلن استفاده گردید. دستگاه فوق‌الذکر دارای یک نمایان‌کننده u.v. (مدل ۴۲۸) بود. از ستون Nova-pak C_{18} برای مشخص کردن نیتروفلنها استفاده شد. طول موج تشخیص 254 nm بود. جریان تمیزکننده از متانول (۴۰٪) و آب (۶۰٪) تشکیل شده بود. نمونه‌ها بروش استخراج با استفاده از بسته C_{18} sep-pak (کمپانی واترز) آماده گردید. نخست بسته‌های C_{18} با عبور ۱ ml آب دی‌یونیزه شده فعال شدند. سپس، ۲ ml از نمونه‌های آزمایش به درون بسته‌های C_{18} عبور داده شد. نیتروفلنهای جذب

جدول ۳: اثر نیتروفلن ۳- بر باکتریهای متان‌ساز در سیستمهای حاوی استات

تزریق شده (PPM)	pH نهایی	VSS# نهایی	بازیاب (روز)	درصد حذف
کنترل	۷/۲	۱۳۴۶	N/A	N/A
کنترل	۷/۱	۱۲۸۷	N/A	N/A
کنترل	۷/۱	۱۲۳۶	N/A	N/A
۱	۷/۲	۱۴۰۰	۱۰۰	-
۱	۷/۳	۱۴۸۰	۱۰۰	-
۱	۷/۲	۱۵۱۰	۱۰۰	-
۱۰	۷/۲	۱۲۶۸	۱۰۰	-
۱۰	۷/۰	۱۲۲۶	۱۰۰	-
۱۰	۶/۹	۱۱۰۰	۱۰۰	-
۲۰	۷/۰	۱۴۳۰	۱۰۰	۲
۲۰	۷/۲	۱۴۲۲	۱۰۰	۲
۲۰	۷/۰	۱۲۹۶	۱۰۰	۲
۴۰	۷/۱	۱۱۹۶	۱۰۰	۵
۴۰	۷/۰	۱۱۴۲	۱۰۰	۵
۴۰	۷/۱	۱۳۰۲	۱۰۰	۵

VSS = مواد جامد معلق فرار = بی تأثیر



شکل ۲: اثرات نیتروفلن ۳- بر باکتریهای متان‌ساز در سیستمهای حاوی استات

pH نهایی در محدوده نرمال بود. با توجه به عدم تجمع قابل توجه استات، قلیائیت طراحی شده برای مقابله با هرگونه کاهشهای pH کافی بود.

نیتروفلن ۳-: نتایج آزمایش سمی بیهوازی نیتروفلن ۳- در شکل ۲ رسم شده است. غلظتهای بیست میلی‌گرم در لیتر و بالاتر نیتروفلن ۳- بر تولید متان اثر گذاشته که نمایانگر منع باکتریهای متان‌ساز می‌باشد. با استفاده از 20 mg l^{-1} ، اثر منع برای دو روز اولیه و با 40 mg l^{-1} ، اثر منع برای ۵ روز اولیه ادامه داشت. سم اضافه شده pH اثری نداشت. نتایج نشان می‌دهد که نیتروفلن ۳- به طور کامل حذف شده است (جدول ۳).

نیتروفلن ۴-: اثرات نیتروفلن ۴- بر تولید متان در شکل ۳ نشان داده شده است. استفاده از 1 mg l^{-1} نیتروفلن ۴- به هیچ وجه تأثیری بر تولید متان نداشت که این نمایانگر عدم اثر منفی بر باکتریهای متان‌ساز می‌باشد. استفاده از 5 mg l^{-1} نیتروفلن ۴- کاهش در تولید متان را در دو روز اولیه نشان می‌دهد. با استفاده از ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر نیتروفلن ۴-، اثرات منع برای ۴-۵ روز مشاهده گردید. اما با 80 mg l^{-1} نیتروفلن ۴- اثرات سمی برگشت‌ناپذیری در بطریهای تزریق شده بوجود آمد. جدول ۴ نشان می‌دهد که تا غلظت 40 mg l^{-1} ، نیتروفلن ۴- به طور کامل از بطریهای سرم حذف شده است. در طی آزمایشها، pH در بطریهای سرم نرمال بود.

دی‌نیتروفلن ۲،۴-: نتایج دی‌نیتروفلن ۲،۴- از آزمایش سمی بیهوازی در شکل ۴ رسم شده است. استفاده از 5 mg l^{-1} دی‌نیتروفلن ۲،۴- بر تولید متان اثر گذاشت که نشان دهنده منع برگشت‌پذیر باکتریهای متان‌ساز می‌باشد. آزمایش با 15 mg l^{-1} و 20 mg l^{-1} دی‌نیتروفلن ۲،۴- در بطریهای سرم به شکست انجامید. جدول ۵ نشان می‌دهد که در غلظتهای 5 mg l^{-1} و 10 mg l^{-1} ، دی‌نیتروفلن ۲،۴- به طور کامل از بطریها حذف شدند. اما برای بطریهای سرم که با 10 ppm دی‌نیتروفلن ۲،۴- تزریق شده بودند، فقط ۷۲٪ حذف شد.

خلاصه ATA: نتایج ATA با نیتروفلن ۲-، نیتروفلن ۳-، نیتروفلن ۴- و دی‌نیتروفلن ۲،۴- در جدول ۶ خلاصه شده است. در بین نیتروفلنهای مطالعه شده، دی‌نیتروفلن ۲،۴- و نیتروفلن ۳- به ترتیب دارای بیشترین و کمترین اثرات منع بودند. نتایج سیستمهای تصفیه بیهوازی نشان می‌دهد که اثر سمی نیتروفلن به ترتیب ذیل کاهش می‌یابد: نیتروفلن ۳- > نیتروفلن ۲- > نیتروفلن ۴- > دی‌نیتروفلن ۲،۴-

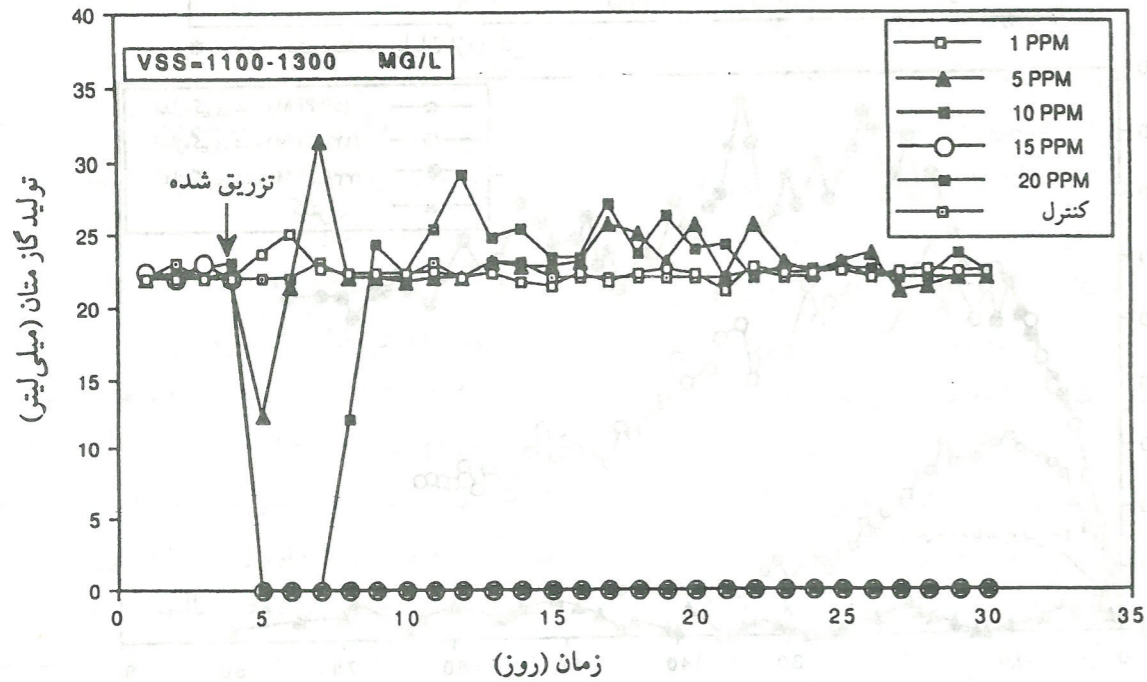
مطالعات راکتورهای دولتری

شکل ۵ اثرات مقادیر ترکیبی نیتروفلن ۴- بر باکتریهای متان‌ساز مصرف‌کننده استات را نشان می‌دهد. راکتورها پس از دستیابی به حالت پایدار در معرض ماده سمی فوق‌الذکر قرار گرفتند. ثابتهای سینتیکی خط پایه براساس نتایج حالت پایدار قبل از تزریق مواد سمی جمع‌آوری و تعیین شد [8]. پس از تزریق نیتروفلن ۴- به راکتورها، اسیدهای فرار در طی چند هفته اولیه افزایش یافته و در نهایت به حد جدیدی از حالت پایدار رسیدند. بالاترین تجمع اسیدهای فرار در راکتوری که با مقدار $33/5 \text{ ppm}$ نیتروفلن ۴- تزریق شده بود، مشاهده گردید. نمودار ۶ حذف نیتروفلن ۴- با زمان را نشان می‌دهد. یک حالت پایدار جدید پس از تقریباً ۲ هفته با تزریق $5/5 \text{ ppm}$ به دست آمد. در طی ۲ هفته اولیه، تقریباً تمام نیتروفلن ۴- در جریان ورودی توسط باکتری متان‌ساز حذف گردید. راکتورهایی که با $5/5 \text{ ppm}$ نیتروفلن ۴- تزریق شده بود سریعتر از راکتورهای تزریق شده با $13/5 \text{ ppm}$ و $33/5 \text{ ppm}$ به حالت پایدار رسیدند. شکل ۶ دستیابی به حالت پایدار جدید را پس از تقریباً ۵ هفته با $13/5 \text{ ppm}$ نشان می‌دهد. در طی این مدت زمان، آزمایش در یکی از راکتورها به علت این که مقدار بی‌کربنات کمتر از حد طراحی شده 5000 mg l^{-1} بود به شکست انجامید. به دلیل فوق‌الذکر pH در آن راکتور کاهش یافت. شکل ۶ همچنین نشان می‌دهد که در راکتورهای تزریق شده با $33/5 \text{ ppm}$ نیتروفلن ۴- مدت زمان بیشتری برای دستیابی به حالت پایدار جدید صرف گردید. در طی این مدت، آزمایش در

جدول ۵: اثر ۲، ۴- نیتروفلن بر باکتریهای متان ساز در سیستمهای حاوی استات

توزیق شده (PPM)	pH نهایی	VSS* نهایی	بازیاب (روز)	درصد حذف
کنترل	۷/۳	۱۴۲۸	N/A	N/A
کنترل	۷/۴	۱۲۵۰	N/A	N/A
کنترل	۷/۰	۱۳۱۰	N/A	N/A
۱	۷/۱	۱۴۸۰	۱۰۰	-
۱	۷/۰	۱۴۳۰	۱۰۰	-
۱	۷/۰	۱۴۰۰	۱۰۰	-
۵	۷/۱	۱۲۱۶	۱۰۰	-
۵	۷/۱	۱۲۷۶	۱۰۰	-
۵	۷/۰	۱۴۸۴	۱۰۰	-
۱۰	۷/۰	۱۲۵۶	۷۲/۸	۳
۱۰	۶/۹	۱۲۲۸	۷۰/۷	۳
۱۰	۷/۰	۱۲۷۰	۷۱/۰	۳
۱۵	۶/۹	۹۹۲	N/A	F _O
۱۵	۷/۰	۸۴۴	N/A	F
۱۵	۷/۰	۸۷۸	N/A	F
۲۰	۶/۸	۱۰۰۴	N/A	F
۲۰	۷/۰	۱۱۶۰	N/A	F
۲۰	۷/۰	۱۲۳۳	N/A	F

VSS = مواد جامد معلق فرار = بی تأثیر - OF مردود

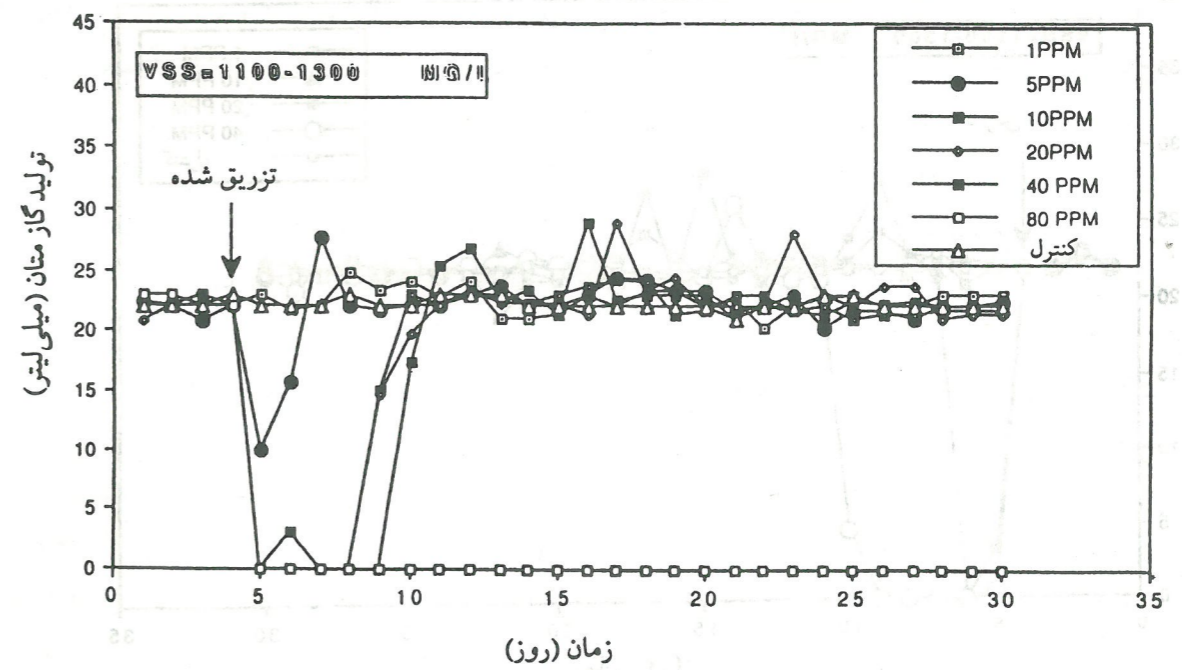


شکل ۴ اثرات دی نیتروفلن - ۲ و ۴ بر باکتریهای متان ساز در سیستمهای حاوی استات

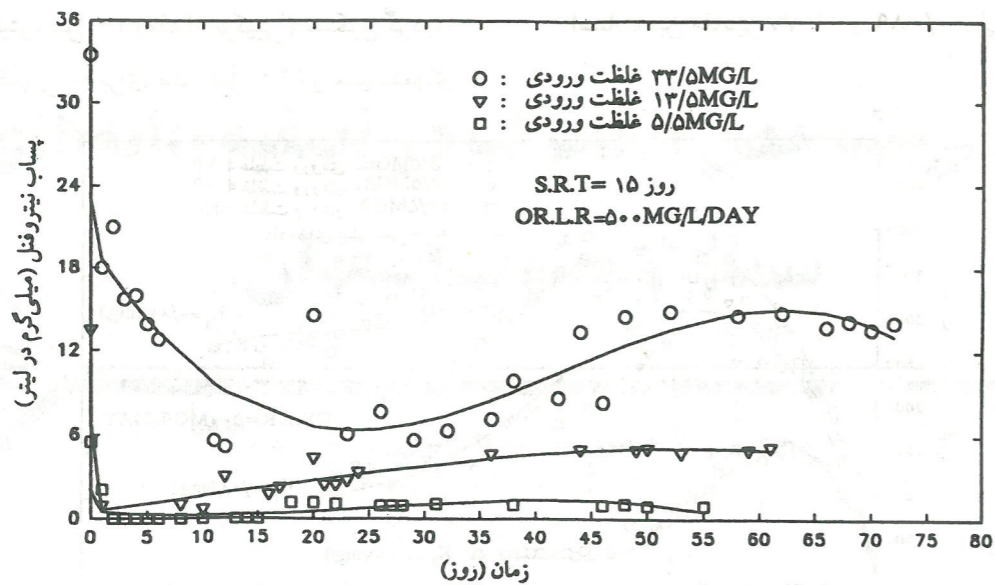
جدول ۴: اثر نیتروفلن - ۴ بر باکتریهای متان ساز در سیستمهای حاوی استات

توزیق شده (PPM)	pH نهایی	VSS* نهایی	بازیاب (روز)	درصد حذف
کنترل	۷/۴	۱۴۲۸	N/A	N/A
کنترل	۷/۱	۱۴۲۸	N/A	N/A
کنترل	۷/۰	۱۳۹۰	N/A	N/A
۱	۷/۳	۱۴۴۰	۱۰۰	-
۱	۷/۰	۱۳۲۰	۱۰۰	-
۱	۷/۱	۱۴۲۰	۱۰۰	-
۵	۷/۱	۱۴۳۴	۱۰۰	-
۵	۷/۰	۱۴۴۲	۱۰۰	-
۵	۷/۳	۱۳۷۴	۱۰۰	-
۱۰	۷/۰	۱۳۸۴	۱۰۰	۴
۱۰	۷/۱	۱۳۲۶	۱۰۰	۴
۱۰	۷/۰	۱۳۶۲	۱۰۰	۴
۲۰	۷/۰	۱۲۵۸	۱۰۰	۴
۲۰	۶/۹	۱۳۳۰	۱۰۰	۴
۲۰	۷/۱	۱۳۳۲	۱۰۰	۴
۴۰	۷/۰	۱۲۸۰	۱۰۰	۵
۴۰	۷/۱	۱۳۰۸	۱۰۰	۵
۴۰	۷/۳	۱۲۷۴	۱۰۰	۵
۸۰	۶/۹	۱۰۵۰	N/A	F _O
۸۰	۷/۰	۹۸۰	N/A	F
۸۰	۷/۰	۱۰۱۰	N/A	F

VSS = مواد جامد معلق فرار = بی تأثیر - OF مردود



شکل ۳: اثرات نیتروفلن - ۴ بر باکتریهای متان ساز در سیستمهای حاوی استات



شکل ۶: غلظتهای اندازه گیری شده نیتروفنل ۴- در سیستمهای حاوی استات

۴- در جریان ورودی ۳۳/۵ و ۱۳/۵، ۵/۵ میلی گرم در لیتر به دست آمد (نمودار ۷). این نتایج نشان می دهد که اثرات نیتروفنل ۴- بر باکتریهای متان ساز شبیه منع رقابت است. مقادیر k_1 (۰/۰۷۷ - ۰/۰۸۹ mgL^{-1}) به دست آمده در این پروژه با مقدار k_1 (۰/۰۷ mgL^{-1}) گزارش شده توسط ونگ [16] برای منع رقابت ایجاد شده نیتروفنل ۴- در سیستمهای بیهوازی به خوبی مقایسه می شود.

نتیجه گیری

در بین نیتروفنلهای مورد مطالعه در این تحقیق، میزان سمیت بر باکتریهای متان ساز مصرف کننده استات به ترتیب ذیل کاهش می یابد:

نیتروفنل ۳- > نیتروفنل ۲- > نیتروفنل ۴- > دی نیتروفنل ۲،۴-
 منونیتروفنلها (نیتروفنل ۲-، نیتروفنل ۳- و نیتروفنل ۴-) تا غلظت $40 mgL^{-1}$ به طور کامل از بطریهای سرم حذف گردیدند. دی نیتروفنل ۲،۴- تا غلظت $5 mgL^{-1}$ به طور کامل حذف شد. مدل ضریب منع رقابت سیستمهای تقویت شده استات که با نیتروفنل ۴- سمی شده بود را در حد مناسبی توضیح می دهد. حالتهای پایدار جدید با غلظتهای مواد غذایی بالاتر در جریان خروجی پس از

1- Bhattacharya and Nadipati, 1991

یکی از راکتورها به علت تجمع استات که بیشتر از حد کلیانیت طراحی شده بی کربنات بود و باعث کاهش pH شد، متوقف گردید.

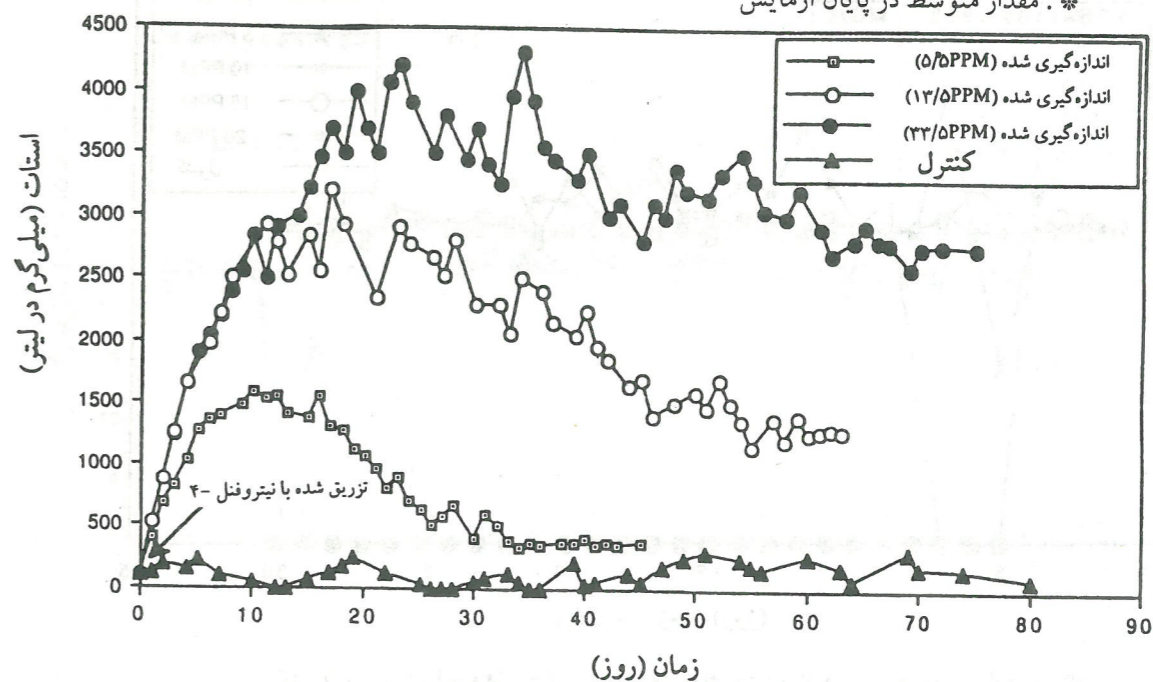
اگر چه تقریباً ۸۲٪ از نیتروفنل ۴- در غلظت $5/5 mgL^{-1}$ حذف شد، فقط حدود ۵۵٪ از نیتروفنل ۴- تزریق شده در $33 mgL^{-1}$ حذف گردید (شکل ۶). نتایج HPLC نشان می دهد که آمینوفنل یا دیگر مواد واسط قابل تشخیص تشکیل نشد. مطالعات قبلی نشان می داد که در فیلترهای بیهوازی، نیتروفنل ۴- قابل حذف اما محصولات جانبی مانند آمینوفنل تشکیل می شوند [4].

چون راکتورها در حالت پایدار نبودند، غلظت نیتروفنل ۴- با زمان در راکتور تغییر می کرد (شکل ۶). به علت این که T_x در معادلات (۳) و (۴) برابر با غلظت نیتروفنل ۴- در جریان ورودی نبود، غلظتهای اندازه گیری شده نیتروفنل ۴- در راکتورها با معادلات درجه سه شبیه سازی گردید (شکل ۶) و مقادیر به دست آمده در معادلات (۳) و (۴) برای T_x جایگذاری شد. مقادیر k_1 از معادلات (۳) و (۴) به روش رگرسیون غیر خطی با استفاده از برنامه Levenberg-Marquardt و با مقادیر معلوم k ، k_2 و Y محاسبه گردید. بهترین مقادیر k_1 به ترتیب برابر با ۰/۰۷۷، ۰/۰۸۶ و ۰/۰۸۹ میلی گرم در لیتر برای غلظتهای نیتروفنل

جدول ۶: اثر نیتروفنل بر باکتریهای متان ساز در بطریهای سرم (ATA)

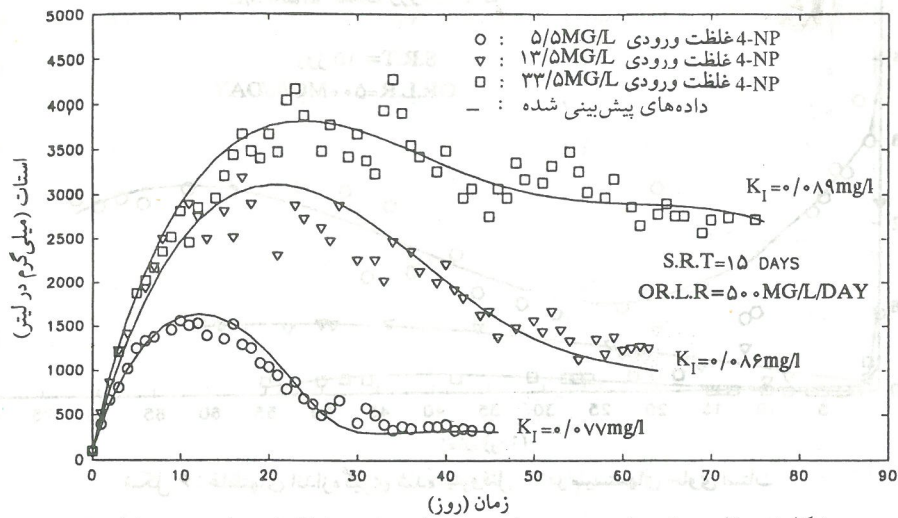
ترکیب (mgL^{-1})	pH*	VSS*	بازیاب (روز)	درصد حذف
نیتروفنل ۲-				
۱	۷/۳	۱۳۵۳	۰	۱۰۰
۱۰	۷/۰	۱۳۹۷	۰	۱۰۰
۲۰	۷/۱	۱۲۷۳	۳	۱۰۰
۳۰	۷/۰	۱۲۴۳	۵	۱۰۰
۴۰	۶/۹	۱۱۶۵	۷	۱۰۰
نیتروفنل ۳-				
۱	۷/۲	۱۴۶۳	۰	۱۰۰
۱۰	۷/۰	۱۱۹۸	۰	۱۰۰
۲۰	۷/۱	۱۳۸۳	۲	۱۰۰
۴۰	۷/۱	۱۲۱۳	۵	۱۰۰
نیتروفنل ۴-				
۱	۷/۱	۱۳۹۳	۰	۱۰۰
۵	۷/۱	۱۴۱۷	۰	۱۰۰
۱۰	۷/۰	۱۳۵۷	۴	۱۰۰
۲۰	۷/۰	۱۳۰۷	۴	۱۰۰
۴۰	۷/۱	۱۲۸۷	۵	۱۰۰
۸۰	۷/۰	۱۰۱۳	مردود	N/A
دی نیتروفنل ۲،۴-				
۱	۷/۰	۱۴۳۷	۰	۱۰۰
۵	۷/۱	۱۳۲۵	۰	۱۰۰
۱۰	۷/۰	۱۲۷۱	۳	۷۲
۱۵	۷/۰	۹۰۵	مردود	N/A
۲۰	۶/۹	۱۱۳۵	مردود	N/A

*: مقدار متوسط در پایان آزمایش



شکل ۵: اثر میزان ترکیبی نیتروفنل ۴- بر سیستمهای حاوی استات

اضافه نمودن نیتروفلن ۴- (مقدار ترکیبی) تشکیل گردید. استات بین مقادیر ۰/۰۷۷ و ۰/۰۸۹ میلی گرم در لیتر تغییر ضریب منع تخمینی k_I برای نیتروفلن ۴- در سیستمهای یافت.



شکل ۷: مقایسه داده‌های پیش‌بینی شده و مشاهده شده غلظت‌های ترکیبی نیتروفلن ۴- در سیستمهای حاوی استات

REFERENCES

- Battersby N.S. and Wilson V. (1989) Survey of the anaerobic biodegradation potential of organic chemicals in digesting sludge. *Appl. environ. Microbiol.* **55**,433-449.
- Blasco R. and Castillo F. (1992) Light-dependent degradation of nitrophenols by the phototrophic bacterium *Rhodobacter capsulatus* EIFI. *Appl. environ. Microbiol.* **58**, 690-695.
- Bhattacharya S.K. and Parkin G.F. (1986) Toxic substances in methane fermentation systems: fate and effect on process kinetics. *Final Report to NSF*. Grant NO. CEE-83-00987, Drexel University, Philadelphia, PA.
- Bhattacharya S.K. and Nandipati R. (1991) Combined anaerobic-aerobic treatment of hazardous leachate. *proc. HMC-south, April, Houston, TX.*
- Environmental protection Agency (1980) *Ambient Water Quality Criteria for Nitrophenols*. EPA-440/s-80-063.
- Eckenfelder W.W. (1989) *Industrial Water pollution control*. McGraw-Hill, New York.
- Jenkins S. R., Morgan J.M. and Sawyer C.L. (1983) Measuring anaerobic sludge digestion and growth by a simple alkalimetric titration. *J. Wat. pollut. Control. Fed.*, **55**,448-453.
- Haghighi podeh M.R. (1991) Fate and toxic effects of cobalt, cadmium, and nitrophenols on anaerobic treatment systems. Doctoral dissertation. Civil and Environmental Engineering Department, Tulane University, New Orleans, LA.
- Nandipati R.M. (1991) Effects and fate of nitrophenols in combined anaerobic-aerobic treatment systems. *M.S. Thesis*, Civil and Environmental Engineering Department, Tulane University, New Orleans, LA.
- Nelson L. M. (1982) Biologically-induced hydrolysis of parathion in soil: isolation of hydrolyzing bacteria. *Soil Biol. Biochem.*, **14**, 219-222.
- Nojima K. (1976) Studies of photochemistry of aromatic hydrocarbons III. *Chemosphere* **5**, 25-30.
- Owen W. F., Stuckey D.C., Young L. Y. and McCarty P.L. (1979) Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. *Wat. Res.* **13**, 485-492.
- Parkin G.F. and Speece R.E. (1982) Modeling toxicity in methane fermentation systems. *J. Environ. Engng. Div., ASCE*, **108**,515-531.
- Sethunathan N. (1973) Degradation of parathion in flooded acid soil. *J. Agric. Food chem.*, **21**, 602-604.
- Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (1985) 15th Edn. American public Health Association, Washington, DC.
- Wang Y. T., Gabbard H. D. and pai P. C. (1991) Inhibition of acetate methanogenesis by phenols. *J. Environ. Engng. Div., ASCE*, **117** 487-500.