

تأثیر بازدارندگی فنل در حذف آمونیاک با فرآیند نیتروبیفیکاسیون از پساب آلوده به فنل و آمونیاک بالای بخش کک‌سازی کارخانه ذوب آهن اصفهان

حسین قناتی^۱ گیتی امتیازی^۲

(دریافت ۸۵/۶/۱ پذیرش ۸۵/۱۲/۳)

چکیده

در این تحقیق از فرآیند نیتروبیفیکاسیون و باکتری‌های اتوتروف غنی شده به منظور حذف آمونیاک از پسابهای صنعتی آلوده به فنل استفاده گردید. این بررسی بر روی پساب ورودی و خروجی بخش کک‌سازی کارخانه ذوب آهن اصفهان صورت گرفت. پساب ورودی حاوی ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک و ۲۵۳۰ میلی‌گرم بر لیتر فنل و پساب خروجی حاوی ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک و ۵۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فنل بود. از محیط‌های مصنوعی نیز به منظور مقایسه میزان حذف آمونیاک در محیط مصنوعی با پساب استفاده شد. در محیط‌های مصنوعی با درصد آمونیاک مشابه پساب و فاقد فنل، حذف در مدت ۸ روز صورت پذیرفت. حذف آمونیاک از پساب خروجی به علت کاهش فنل نسبت به پساب ورودی کارایی بالاتری داشت. در کل بهترین نتیجه مربوط به تیمار پساب خروجی به همراه اتوتروف‌های نیتروبیفیکاتور و با اثردهی کربنات سدیم بود که حذف کامل آمونیاک در مدت زمان ۱۴ روز انجام شد. از روش MPN نیز به منظور مقایسه تعداد باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک استفاده گردید و کشت غنی شده با حضور $10^3 \times 4$ سلول در هر میلی‌لیتر بیشترین تعداد باکتری را شامل بود. نتایج حاصله، نشان دهنده اثر بازدارندگی فنل در فرآیند نیتروبیفیکاسیون است و روشهای به کار گرفته شده راهکار بسیار مناسبی برای حذف آمونیاک از پسابهای آلوده به درصد‌های بالای فنل می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: نیتروبیفیکاسیون، باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک، حذف آمونیاک، تأثیر بازدارندگی فنل، پساب کک‌سازی.

Inhibitory Effect of Phenol on Ammonia Removal by Nitrification of High Ammonia and Phenol Contaminated Coke Wastewater from Isfahan Steel Company (ISCO)

Hossein Ghanavati¹

Giti Emtiazi²

(Received Aug. 23, 2006 Accepted Feb. 22, 2007)

Abstract

In this study, the nitrification process using enriched ammonia oxidizing bacteria was used for ammonium removal from coke wastewater of Isfahan Steel Company (ISCO). Influent and effluent samples containing $\sim 600 \text{ mg l}^{-1}$ ammonium and $2530\text{-}550 \text{ mg l}^{-1}$ phenol were collected. For comparative assessment, ammonia removal was performed on artificial media in which removal of ammonium took a shorter time (8 days) than in the real wastewater. Ammonium removal efficiency from the effluent was higher than that from the influent due to the reduced phenol content in the former. The best result occurred in the treatment composed of effluent, enriched nitrifiers, and

1-Researcher of Microbiology, Isfahan University, ghanavati@yahoo.com

2-Professor of Microbiology, Isfahan University

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی دانشگاه اصفهان، ghanavati@yahoo.com

۲- استاد بخش میکروبیولوژی دانشگاه اصفهان

bicarbonate for which a record ammonium removal of 14 days was observed. MPN method was used to count and compare colonies of nitrifying bacteria in the samples. The enriched nitrifier sample containing 4.6×10^3 cell ml^{-1} was the best. The results show that phenol has inhibitory effects on nitrification. Carbonate ions and enriched nitrifying bacteria have positive effects on ammonium removal in all samples.

Keywords: Nitrification, Ammonia Oxidizing Bacteria, Ammonium Removal, Inhibitory Effect of Phenol, Coke Wastewater.

۱- مقدمه

نیتروبیفیکاسیون از فرآیندهای مهم در حذف آمونیاک بالاخص آمونیاک موجود در پسابهای صنعتی می باشد [۱]. یکی از مشکلات پسابهای صنعتی حضور مقادیر بالای آمونیاک و فنل می باشد. پسابهای آلوده به درصدهای بالای فنل، اثر بازدارندگی فراوانی بر روی نیتروبیفیکاسیون دارند [۲ و ۳]. باید دانست پساب کارخانه های تولید آهن حاوی کک فراوان است و میزان حضور فنل در پسابهای کک سازی وابسته به نوع کک مصرفی و نیز فرآیند تهیه کک است. ترکیبات پساب کک سازی شامل مقادیر بالایی از آمونیاک، فنل و مقادیر کمی فسفر و فلزات سنگین می باشد. کارخانه ذوب آهن اصفهان یکی از بزرگ ترین کارخانه های ایران و یکی از پایه های اصلی صنعت ایران است. این کارخانه از بخشهای مختلفی تشکیل شده است که بسته به فرآیندی که در هر قسمت صورت می گیرد و نیز بسته به محصولات آن که در هر قسمت تولید می گردد پساب صنعتی با خصوصیات ویژه ای تولید می شود. برای حذف مواد سمی و آلاینده ها از هر یک از این پسابها، سیستم ویژه ای مورد نیاز است.

عمل نیتروبیفیکاسیون توسط باکتری های نیتروبیفیکاتور صورت می گیرد. این باکتری ها که از نوع شیمیولیتواتوتروف می باشند، جزء خانواده پروتوباکتورها، گرم منفی و هوازی هستند و دارای زمان تقسیم طولانی و حساس به نور و شرایط اسیدی می باشند [۴ و ۵]. استفاده از باکتری های نیتروبیفیکاتور غنی شده برای حذف آمونیاک از پسابهای صنعتی، در تحقیقات متعددی گزارش شده است [۶ و ۷]. ترکیبات فنل از جمله مهم ترین ترکیبات آلی هستند که بر روی نیتروبیفیکاسیون اثر بازدارندگی دارند [۳]. ترکیبات آلی مذکور نقشی عمده در ترکیبات اصلی پسابهای صنعتی دارند [۸ و ۹]. اثر بازدارندگی فنل به دلیل تأثیر بر روی آنزیم آمونیاک مونواکسیژناز، تغییر در غشاء و تأثیر بر پروتئین های متصل به لیپیدها در غشاء، تولید متابولیت های سمی و نیز دگرگونی متابولیت های درون سلولی می باشد [۱۰ و ۱۱]. pH پسابهای صنعتی معمولاً پایین است و باید متعادل و قلیایی شود تا فرآیند نیتروبیفیکاسیون صورت پذیرد [۱۲]. برای این منظور محققین متعددی از یون های کربنات استفاده

می کنند [۱۲ و ۱۳]. این یون ها خاصیت بافری دارند و به باکتری های نیتروبیفیکاتور در مقابل شوک حاصل از کاهش pH، تجمع آمونیاک و تجمع نیتريت کمک می کنند و در واقع یک نوع ماده اشتها آور و تحریک کننده فرآیند نیتروبیفیکاسیون محسوب می شوند [۱۲ و ۱۳].

هدف اصلی از این تحقیق پایین آوردن میزان آمونیاک پساب بخش کک سازی کارخانه ذوب آهن اصفهان با استفاده از باکتری های اکسید کننده آمونیاک غنی شده بود.

۲- مواد و روشها

۲-۱- نمونه برداری پساب به منظور بررسی حذف آمونیاک

نمونه پساب به کار گرفته شده در این تحقیق، پساب بخش کک سازی ذوب آهن اصفهان بود. نمونه برداری از دو محل انجام شد؛ نخست در محل ورود پساب به سیستم حذف پساب در بخش کک سازی ذوب آهن اصفهان (پساب ورودی) که دارای آمونیاک ۶۰۰ میلی گرم بر لیتر و فنل ۲۵۳۰ میلی گرم بر لیتر بود و دیگری پساب خارج شونده از این قسمت (پساب خروجی) که دارای آمونیاک ۶۰۰ میلی گرم بر لیتر (برابر با پساب ورودی) بود و میزان فنل آن تا حد ۵۵۰ میلی گرم بر لیتر کاهش یافته بود.

۲-۲- محیط کشت اختصاصی باکتری های اکسید کننده آمونیاک

محیط کشت اختصاصی استفاده شده برای باکتری های اکسید کننده آمونیاک شامل مواد معدنی زیر در یک لیتر بود:

$(NH_4)_2SO_4$, 0.5 g; KH_2PO_4 , 0.2g; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0.02g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.04g; $FeNaEDTA$, 3.8mg; phenol red, 0.1mg; $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$, 0.1mg; $MnCl_2$, 0.2mg; $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, 0.002mg; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.1mg and $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 0.02mg

محیط بعد از آماده شدن در pH برابر با ۷/۵ تنظیم می گردد. استریلیزاسیون در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار ۱۵ اتمسفر در مدت زمان ۲۰ دقیقه صورت پذیرفت. بعد از اتوکلاو، کربنات سدیم ۰/۸۴ میلی مولار به صورت استریل به محیط کشت اضافه گردید [۱۴ و ۱۵].

۲-۳- روش غنی‌سازی باکتری‌های اکسیدکننده آمونیاک با تهیه سریال رقت

عمل غنی‌سازی به روش تهیه سریال رقت به منظور کاهش هتروتروف‌ها در هر پاساژ و در حذف آنها می‌باشد. اساس این روش، رقیق‌سازی و پاساژ دادن نمونه‌ها می‌باشد. برای انجام غنی‌سازی ابتدا محیط کشت اختصاصی باکتری‌های اکسیدکننده آمونیاک را ساخته و از نمونه پساب که حاوی باکتری‌های نیتروبیفیکاتور بود، چند میلی لیتر به محیط کشت اختصاصی تلقیح کردیم و همچنین کربنات سدیم، به عنوان تنظیم‌کننده pH و منبع کربن و عامل تحریک رشد باکتری‌های اتوتروف به محیط اضافه شد. به دلیل حضور فنل قرمز در محیط کشت در اثر اضافه کردن کربنات سدیم رنگ محیط کشت صورتی می‌گردد که نشانه ایجاد شرایط pH مناسب برای رشد باکتری‌های نیتروبیفیکاتور می‌باشد. بعد از قرار گرفتن نمونه‌ها بر روی تکان‌دهنده^۱ و در تاریکی و دمای ۲۸ درجه، تغییر رنگ صورتی به بی‌رنگ تا زرد نشانه رشد باکتری‌های نیتروبیفیکاتور و تولید نیتريت و کاهش pH می‌باشد و در این زمان باید مجدداً کربنات سدیم اضافه گردد تا رنگ صورتی در محیط کشت مشاهده شود. زمانی که میزان آمونیاک مصرفی ۱/۳ تا ۲/۳ کل آمونیاک محیط کشت باشد و یا میزان نیتريت تولید شده ۱/۳ تا ۲/۳ کل نیتريت تولیدی توسط اتوتروف‌های اکسیدکننده آمونیاک شده باشد، زمان مناسب برای پاساژ دادن است که علت آن قرار گرفتن همیشگی اتوتروف‌های نیتروبیفیکاتور در فاز لگاریتمی رشد می‌باشد. اگر باکتری‌های اتوتروف در فاز سکون^۲ وارد شوند هتروتروف‌ها فرصت رشد پیدا خواهند کرد و غنی‌سازی به درستی انجام نخواهد گرفت [۱۴ و ۱۵].

۲-۴- اندازه‌گیری آمونیاک و نیتريت

از معرف نسلر برای اندازه‌گیری آمونیاک استفاده شد. این معرف در حضور آمونیاک از خود رنگ زرد نشان می‌دهد که میزان جذب این رنگ در دستگاه اسپکتوفتومتر برابر ۴۱۰ نانومتر بود. با قراردادن عدد OD در رابطه مربوط به منحنی استاندارد مقدار آمونیاک نمونه مجهول به دست آورده می‌شود [۱۶].

اندازه‌گیری نیتريت با معرف‌های آلفا نفتیل آمین و اسید سولفانیلیک انجام گرفت. این معرف‌ها در حضور نیتريت از خود رنگ قرمز نشان می‌دهند. میزان جذب این رنگ در دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۴۳ نانومتر تعیین شد. با قراردادن

¹ Shaker

² Stationary Phase

عدد OD به دست آمده در رابطه مربوط به منحنی استاندارد مقدار نیتريت نمونه مجهول به دست می‌آید [۱۶].

۲-۵- اندازه‌گیری فنل

معرف گیبس (۲ و ۴ دی کلروکوئینون-۴-کلرامید) برای اندازه‌گیری فنل مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری میزان فنل نمونه مورد نظر، به ۱۵۰ میلی‌لیتر از نمونه سانتریفوژ شده (در دور ۶۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه) میزان ۳۰ میلی‌لیتر Na_2HCO_3 و ۲۰ میلی‌لیتر از معرف گیبس اضافه شد و عدد OD در طول موج ۶۳۰ نانومتر در دستگاه اسپکتوفتومتر به دست آمد و در رابطه مربوط به منحنی استاندارد قرار گرفت تا مقدار فنل نمونه مجهول به دست آید [۱۷].

۲-۶- روش بررسی حذف آمونیاک از پساب توسط اتوتروف‌های غنی شده

در این روش از باکتری‌های اتوتروف نیتروبیفیکاتور غنی شده استفاده گردید. بررسی میزان حذف آمونیاک، در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری صورت گرفت. ۵ میلی‌لیتر از نمونه غنی شده اتوتروفی به ۶۵ میلی‌لیتر پساب (پساب ورودی و یا خروجی بر اساس نوع پساب مورد بررسی) اضافه گردید. کربنات سدیم از محلول ۰/۸۴ میلی‌مولار به ارلن‌هایی که در آنها اثر کربنات سدیم در حذف آمونیاک مورد بررسی قرار گرفته بود، اضافه شد. برای ساخت نمونه شاهد، ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به ۶۵ میلی‌لیتر پساب اضافه شد. مقدار اولیه آمونیاک و نیتريت در ارلن‌ها اندازه‌گیری شد. اضافه نمودن مجدد کربنات سدیم زمانی صورت گرفت که pH محیط بر اثر رشد و فعالیت باکتری‌های اکسیدکننده آمونیاک و تولید نیتريت کاهش یافته بود. افزایش میزان نیتريت و کاهش میزان آمونیاک اندیکاتور برای اضافه کردن کربنات سدیم می‌باشد. مقدار آمونیاک و نیتريت نمونه‌ها در فواصل زمانی ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد.

۲-۷- روش بررسی حذف آمونیاک از محیط مصنوعی توسط اتوتروف‌ها

میزان آمونیاک محیط‌های مصنوعی معادل با نمونه پساب مورد بررسی یعنی ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد. آمونیاک به شکل سولفات آمونیوم به محیط‌های کشت افزوده شد و pH آن برابر ۷/۵ تنظیم گردید. محیط پایه استفاده شده محیط اختصاصی باکتری‌های اکسیدکننده آمونیاک بود. در ادامه ۶۵ میلی‌لیتر از محیط مصنوعی، در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری قرار داده شد و بعد از استریل کردن آن، به مقدار ۵ میلی‌لیتر اتوتروف غنی شده به هر ارلن اضافه گردید، سپس کربنات سدیم از محلول ۰/۸۴ میلی‌مولار

به هر ارلن افزوده شد. شیوه انجام آزمایش‌ها و زمان اندازه‌گیری همانند روش حذف آمونیاک توسط اتوتروف‌های غنی شده از پساب می‌باشد.

۲-۸- روش MPN برای شمارش باکتری‌های اکسیدکننده آمونیاک اساس این روش همان مراحل اصلی MPN است و اندیکاتور در این روش تغییر رنگ صورتی محیط به بی‌رنگ می‌باشد [۱۸] و [۱۹]. برای این منظور لوله‌ها در انکوباتور ۲۸ درجه سانتی‌گراد بدون تکان دادن^۱ و در تاریکی انکوبه شد. مدت انکوباتورگذاری هشت هفته بود. بعد از این مدت نمونه‌هایی که رنگ آنها از صورتی به بی‌رنگ تغییر کرده بود به عنوان نمونه‌های مثبت در نظر گرفته شدند. تعداد نمونه‌های مثبت در هر رقت شمارش شد و از روی جدول استاندارد MPN تعداد باکتری‌های نیتروبیفیکاتور تعیین گردید [۲۰]. در این روش از نمونه پساب ورودی و خروجی بخش کک‌سازی ذوب آهن و همچنین کشت غنی شده باکتری‌های اکسیدکننده آمونیاک به منظور مقایسه تعداد باکتری‌های اکسیدکننده آمونیاک استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- اندازه‌گیری میزان فنل پسابهای مورد بررسی

میزان فنل پسابهای ورودی و خروجی با معرف گیبس اندازه‌گیری شد. میزان فنل پساب ورودی مورد بررسی ۲۵۳۰ میلی‌گرم بر لیتر و میزان فنل پساب خروجی مورد بررسی ۵۵۰ میلی‌گرم بر لیتر اندازه‌گیری گردید.

۳-۲- خصوصیات باکتری‌های اکسیدکننده آمونیاک غنی شده

در جدول ۱، خصوصیات باکتری‌های اکسیدکننده آمونیاک جدا شده نشان داده شده است که با خصوصیات بیان شده در کتاب برگگی^۲ مطابقت دارد [۲۱]. نتایج ذکر شده در جدول ۱ تأییدکننده

قرارگیری باکتری‌های جداسازی شده در گروه باکتری‌های اتوتروف اکسیدکننده آمونیاک می‌باشد.

۳-۳- حذف آمونیاک از پساب ورودی

این نتایج از تأثیر باکتری‌های اتوتروف غنی شده بر روی پساب ورودی به دست آمده است. تیمارهای مختلف انجام شده در قسمت راهنمای شکل ۱ نشان داده شده است. تفسیر نمودار شکل ۱ به شرح زیر می‌باشد:

در نمونه شاهد حذفی صورت نگرفت. باکتری‌های اتوتروف غنی شده، به تنهایی بر روی میزان حذف آمونیاک موجود در پساب مؤثر نمی‌باشند و مقدار آمونیاک حذف شده در مدت زمان ۱۸ روز ۹۶ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک (۱۶/۲۴ درصد) می‌باشد. در نمونه پساب به همراه کربنات سدیم میزان حذف ۱۷۵ میلی‌گرم بر لیتر، طی ۱۸ روز می‌باشد که معادل با ۱۳۶ میلی‌گرم نیتروژن بر لیتر (۳۰/۸ درصد) است. در نمونه پساب به همراه باکتری‌های اتوتروف غنی شده و کربنات سدیم میزان حذف ۵۵۸ میلی‌گرم بر لیتر (۱۰۰ درصد)، طی ۱۸ روز می‌باشد.

کامپس^۳ و همکاران در سال ۱۹۹۹ از فرآیند نیتروبیفیکاسیون به منظور حذف آمونیاک از پساب استفاده کردند که میزان حذف آمونیاک بین ۹۷ تا ۹۹ درصد بود [۱]. رویز^۴ و همکاران در سال ۲۰۰۳ از فرآیند نیتروبیفیکاسیون جزئی و تجمع نیترات به منظور حذف آمونیاک از پساب با ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک استفاده نمودند که حذف آمونیاک به طور کامل صورت گرفت [۲۲]. یاماگیشی^۵ و همکاران در سال ۲۰۰۱ حذف همزمان فنل و آمونیاک را از پساب توسط فرآیند نیتروبیفیکاسیون با استفاده از لجن فعال به صورت تک مرحله‌ای انجام دادند و حذف آمونیاک به طور کامل در مدت زمان ۱۸ روز انجام گرفت [۹]. در این تحقیق میزان حذف آمونیاک پساب کک‌سازی با استفاده از فرآیند نیتروبیفیکاسیون در بعضی تیمارها به میزان ۱۰۰ درصد بود.

¹ Shake

² Bergy

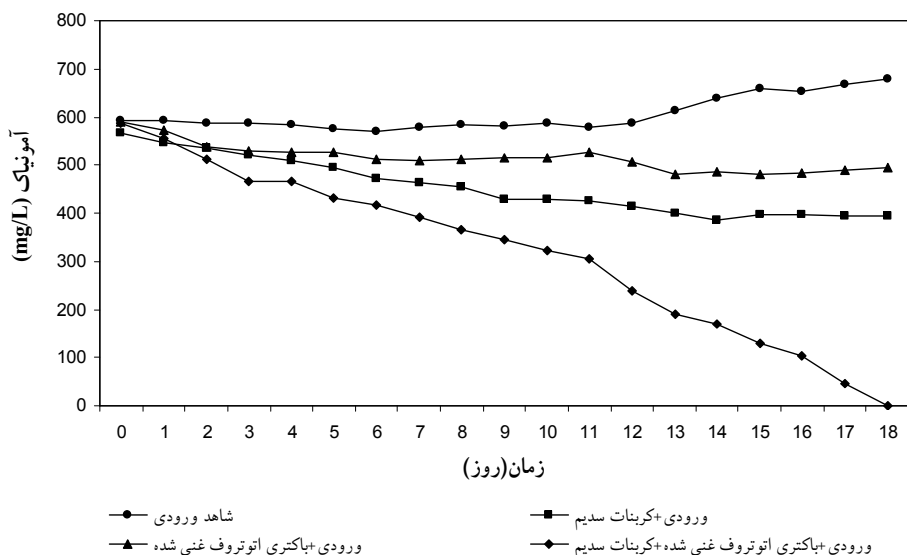
³ Campos

⁴ Ruiz

⁵ Yamagishi

جدول ۱- خصوصیات باکتری‌های اکسیدکننده آمونیاک

منفی	تست گرم
کروی تا بیضی	شکل
مثبت	رشد روی محیط کشت اختصاصی حاوی آمونیاک
منفی	رشد در حضور مواد آلی (محیط نوترینت آگار)
منفی	رشد در محیط حاوی مواد معدنی بدون آمونیاک
شیمیولیتواتوتروف	نوع تغذیه
کاهش pH محیط کشت در اثر	تغییرات pH
فعالیت باکتری	تولید نیتريت
مثبت	حذف آمونیاک
مثبت	



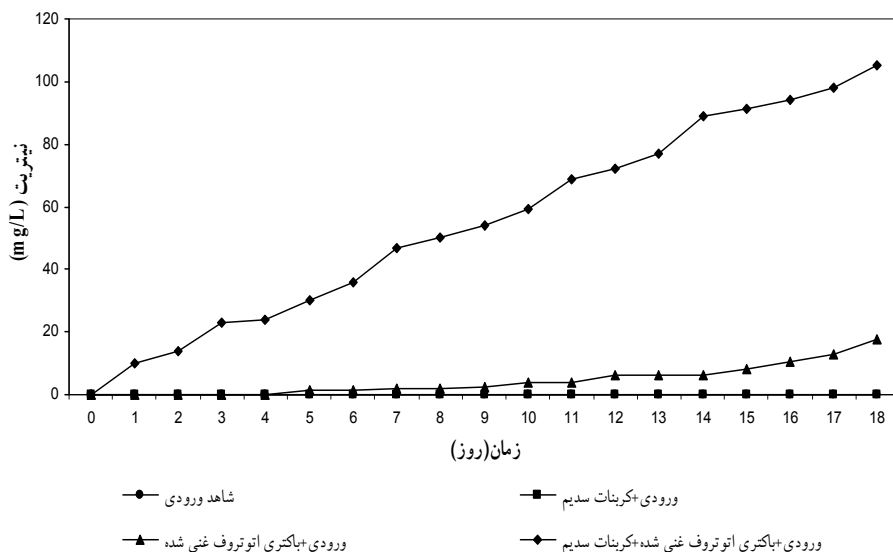
شکل ۱- حذف آمونیاک از پساب ورودی

اتوتروف غنی شده، نشانه عدم حذف آمونیاک نیست. آمونیاک با همکاری باکتری‌های نیتروبیفیکاتور و دنیتروبیفیکاتور موجود در پساب مراحل حذف را طی می‌کند، ولی به دلیل غنی نبودن این باکتری‌ها این مراحل به کندی و با راندمان پایین صورت می‌گیرد. در نمونه‌های حاوی باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک غنی شده به دلیل تعداد زیاد این باکتری‌ها، توانایی حذف آمونیاک زیاد می‌باشد و به دلیل تولید زیاد نیتريت، با وجود تبدیل نیتريت به ديگر متابوليت‌های چرخه نيتروژن شاهد سير صعودی میزان نیتريت هستيم.

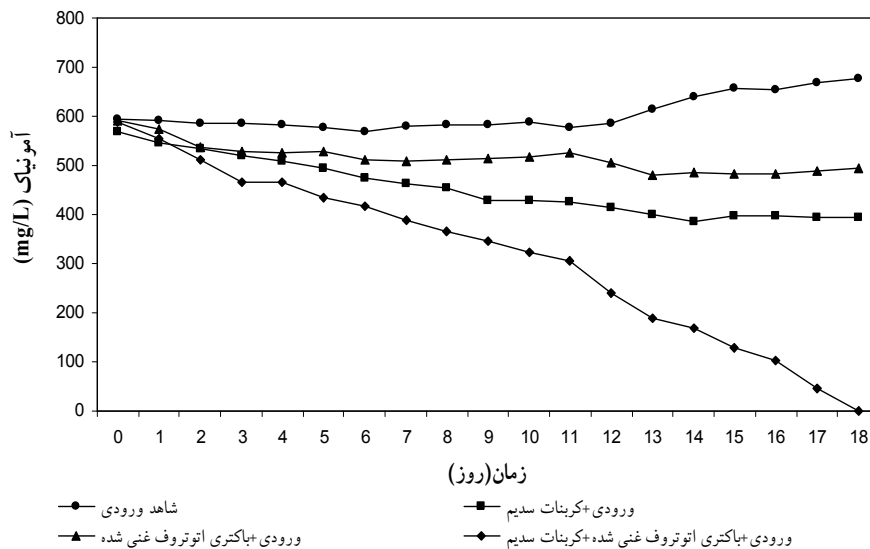
۳-۴- تولید نیتريت در پساب ورودی

این نتایج از تأثیر باکتری‌های اتوتروف غنی شده بر روی پساب ورودی به دست آمده است. تیمارهای مختلف انجام شده در قسمت راهنمای شکل ۲ نشان داده شده است.

همان طور که در شکل مشخص است در نمونه پساب حاوی باکتری‌های اتوتروف غنی شده همراه با کربنات سدیم نیز نیتريت به میزان ۱۰۵ میلی گرم بر لیتر طی ۱۸ روز تولید شد. نمونه پساب حاوی باکتری‌های اتوتروف غنی شده نیز به میزان ۱۷/۸ میلی گرم بر لیتر طی ۱۸ روز تولید شد. در نمونه ورودی به همراه کربنات سدیم، نیتريتی تولید نشده بود. عدم تولید نیتريت در نمونه‌های حاوی پسابهای ورودی به همراه کربنات و فاقد باکتری‌های



شکل ۲- میزان تولید نیتريت از پساب ورودی



شکل ۳- حذف آمونیاک از پساب خروجی

استفاده شد. روش غنی‌سازی استفاده شده در این تحقیق شبیه به روش استفاده شده توسط کوایی و ورستریت می‌باشد.

۳-۶- تولید نیتريت در پساب خروجی

این نتایج از تأثیر باکتری‌های اتوتروف غنی‌شده بر پساب خروجی به دست آمده است. تیمارهای مختلف انجام شده در قسمت راهنمای شکل ۴ نشان داده شده است.

تفسیر شکل ۴ به شرح زیر می‌باشد:

در نمونه شاهد آمونیاک تولید نشد. در نمونه پساب خروجی و باکتری‌های اتوتروف غنی‌شده همراه با کربنات سدیم میزان ۴۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نیتريت در مدت زمان ۱۴ روز تولید شد. بعد از اتمام آمونیاک محیط، میزان نیتريت رو به کاهش می‌رود که این امر منطقی است؛ به این دلیل که نیتريت در حال تبدیل به دیگر متابولیت‌ها توسط باکتری‌های نیتريفیکاتور و دنیتريفیکاتور موجود در پساب است، ولی نیتريت تولید نمی‌شود. در نمونه پساب خروجی حاوی باکتری‌های اتوتروف غنی‌شده میزان ۹۰ میلی‌گرم بر لیتر نیتريت در مدت زمان ۱۸ روز تولید شد. در نمونه خروجی به همراه کربنات سدیم نیتريتی تولید نشد. علل عدم تولید نیتريت در این نمونه در بخش تولید نیتريت در پساب ورودی تفسیر شده است.

۳-۷- حذف آمونیاک از محیط مصنوعی حاوی مقدار آمونیاک برابر با پساب (۶۰۰ mg/L)

تیمارهای مختلف انجام شده در قسمت راهنمای شکل ۵ که مربوط به حذف آمونیاک از محیط مصنوعی حاوی مقدار میلی‌گرم آمونیاک

۳-۵- حذف آمونیاک از پساب خروجی

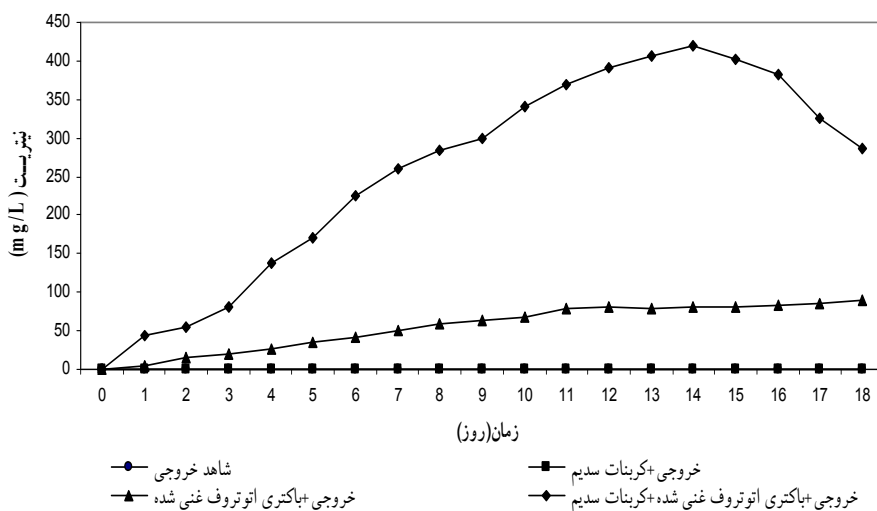
این نتایج از تأثیر باکتری‌های اتوتروف غنی‌شده بر روی پساب خروجی به دست آمده است. تیمارهای مختلف انجام شده در قسمت راهنمای شکل ۳ نشان داده شده است.

تفسیر شکل ۳ به شرح زیر می‌باشد:

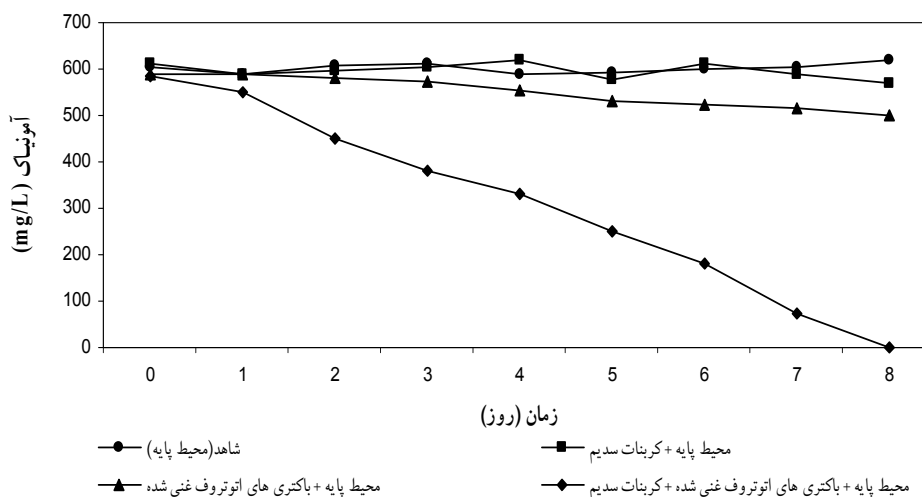
در نمونه شاهد حذفی صورت نگرفت. همان طور که از این شکل بر می‌آید در نمونه پساب حاوی اتوتروف‌های غنی‌شده و کربنات سدیم طی ۱۴ روز، میزان آمونیاک از ۵۶۸ میلی‌گرم بر لیتر (۱۰۰ درصد) به صفر رسیده است. در حالی که در نمونه پساب حاوی اتوتروف‌های غنی‌شده بدون کربنات سدیم مقداری اندک در حدود ۵۸ میلی‌گرم آمونیاک (۹/۶ درصد آمونیاک) در مدت زمان ۱۸ روز حذف گردید. در نمونه پساب به همراه کربنات سدیم میزان ۲۵۴ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک معادل ۱۹۷ میلی‌گرم بر لیتر نیتروژن (۴۲/۷ درصد آمونیاک) در مدت زمان ۱۸ روز حذف گردید.

گرومن^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۲ [۷]، بولمن^۲ و لانیروک^۳ در سال ۲۰۰۱ [۶] و کوایی^۴ و ورستریت^۵ در سال ۱۹۹۸ [۲۲]، از کشت غنی‌شده به منظور حذف آمونیاک از پسابهای صنعتی استفاده کردند. در این تحقیق از روش کشت غنی‌شده باکتری‌های اکسیدکننده آمونیاک که کارایی بالایی در حذف آمونیاک داشتند

¹ Grommen
² Bollmann
³ Laanbroek
⁴ Kuai
⁵ Verstrete



شکل ۴- میزان تولید نیتريت از پساب خروجی



شکل ۵- حذف آمونیاک در محیط مصنوعی حاوی ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک

۳-۸- تولید نیتريت در محیط مصنوعی حاوی مقدار آمونیاک برابر با پساب (۶۰۰ mg/L)

تیمارهای مختلف انجام شده در قسمت راهنمای شکل ۶ که مربوط به تولید نیتريت در محیط مصنوعی حاوی ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک توسط باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک می‌باشد، نشان داده شده است.

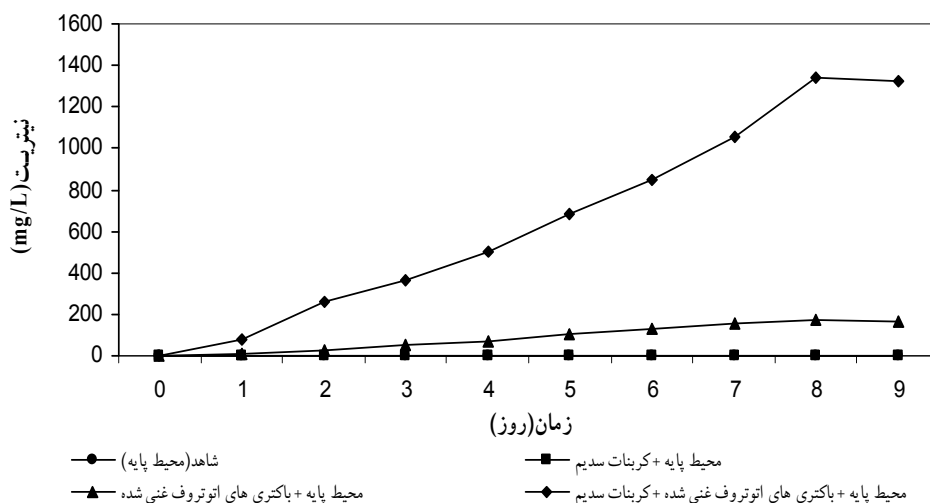
تفسیر شکل ۶، به شرح زیر می‌باشد:

در نمونه شاهد و نمونه محیط پایه به همراه کربنات سدیم نیتريتی تولید نشد. در محیط پایه حاوی باکتری‌های اتوتروف همراه با کربنات سدیم، میزان تولید نیتريت ۱۳۴۳ میلی‌گرم بر لیتر در مدت زمان ۸ روز می‌باشد؛ در حالی که، در نمونه‌ای که صرفاً حاوی

بر لیتر برابر با پساب (۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک) توسط باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک می‌باشد، نشان داده شده است.

تفسیر شکل ۵، به شرح زیر می‌باشد:

در نمونه شاهد و نمونه محیط پایه به همراه کربنات سدیم حذفی صورت نگرفت. این نتیجه نشان می‌دهد یون‌های کربنات تأثیری در حذف آمونیاک بدون حضور باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک غنی شده ندارند. در محیط پایه حاوی باکتری‌های اتوتروف همراه با کربنات سدیم، ۵۸۵ میلی‌گرم آمونیاک بر لیتر در مدت زمان ۸ روز حذف گردید، در حالی که در نمونه‌ای که صرفاً حاوی اتوتروف‌های غنی شده بود (فاقد کربنات سدیم) میزان حذف آمونیاک ۸۸ میلی‌گرم بر لیتر بود.



شکل ۶- تولید نیتريت در محیط مصنوعی حاوی ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک

جدول ۲- مقایسه نتایج حذف آمونیاک در پساب ورودی و خروجی و محیط مصنوعی

محیط مصنوعی + اوتوتروف‌های غنی شده + کربنات	خروجی + اوتوتروف‌های غنی شده + کربنات	ورودی + اوتوتروف‌های غنی شده + کربنات	محیط مصنوعی + کربنات	خروجی + کربنات	ورودی + کربنات	پارامتر
۵۸۵	۵۶۸	۵۵۸	۰	۲۵۴	۱۷۵	حذف آمونیاک (mgNH ₄ ⁺ /L)
۱۳۴۳	۴۲۰	۱۰۵	۰	۰	۰	تولید نیتريت (mgNO ₂ /L)
۴۸۱/۵	۴۴۱	۴۳۴	۰	۱۹۷	۱۳۶	حذف آمونیاک (mgN/L)
۴۰۸	۱۲۷/۸	۳۲	۰	۰	۰	تولید نیتريت (mg N/L)
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۰	۴۲/۷	۴۰/۸	درصد حذف آمونیاک
۸	۱۴	۱۸	۸	۱۸	۱۸	مدت زمان حذف، روز

صورت گرفته بیشتر بوده است و این به دلیل تبدیل فوری نیتريت به ديگر متابوليت‌های مسير نيتريفيکاسيون و دنيتريفيکاسيون در نمونه‌های مورد بررسی می‌باشد.

نقش مؤثر کربنات سدیم در حذف آمونیاک از پساب در نمونه‌های حاوی باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک غنی شده، کاملاً مشهود است و کربنات سدیم به عنوان عامل بسیار مؤثری در حذف آمونیاک از پساب مطرح می‌گردد. وت^۱ و روچ^۲ در سال ۲۰۰۳ از یون‌های بی‌کربنات در بالا بردن کارایی سیستم حذف آمونیاک از پساب استفاده کردند [۱۳]. کاررا^۳ و همکاران در سال ۲۰۰۳ از کربنات سدیم به منظور حذف آمونیاک از پساب صنعتی استفاده کردند و آمونیاک را بین ۹۰ تا ۱۰۰ درصد پایین آوردند؛ در حالی که در نمونه‌های بدون کربنات سدیم حذفی صورت نگرفت [۱۲].

¹ Wett
² Rauch
³ Carrera

اتوتروف‌های غنی شده بود (فاقد کربنات سدیم) میزان تولید نیتريت ۱۷۴ میلی‌گرم بر لیتر طی ۸ روز بود.

۳-۹- مقایسه نتایج حذف آمونیاک و تولید نیتريت از پساب ورودی، خروجی و محیط مصنوعی

همان طور که در جدول ۲ قابل مشاهده است نتایج به دست آمده حاکی از تأثیر منفی فنل در حذف آمونیاک با استفاده از باکتری‌های اتوتروف است. همان طور که در نتایج مشخص است کمترین زمان حذف مربوط به محیط مصنوعی به دلیل عدم حضور فنل است.

زمان حذف آمونیاک در پساب خروجی (با میزان ۵۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فنل) نسبت به پساب ورودی (با میزان ۲۵۳۰ میلی‌گرم بر لیتر فنل) کمتر است و کوتاه‌تر شدن زمان به دلیل کاهش میزان فنل پساب است.

حذف آمونیاک بر حسب مقدار نیتروژن نسبت به تولید نیتريت بر حسب مقدار نیتروژن در هر دو پساب در تمامی تیمارهای

در این تحقیق نیز از کربنات سدیم استفاده گردید و نمونه‌هایی که با حضور آن آزمایش شدند، میزان حذف قابل توجهی از خود نشان دادند و در تیمار شامل اتوتروف‌های غنی شده و کربنات، شاهد حذف ۱۰۰ درصدی آمونیاک بودیم.

۳-۱۰- نتایج شمارش باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک اتوتروف با روش MPN

در این شمارش، نتایج بر حسب تعداد باکتری در هر میلی‌لیتر نمونه مورد نظر می‌باشد. در نمونه پساب ورودی $10 \times 3/6$ ، در نمونه پساب خروجی $10 \times 3/6$ و در نمونه کشت غنی شده باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک $10^3 \times 4/6$ باکتری در هر میلی‌لیتر نمونه مشاهده شد. مقایسه نتایج فوق نشان می‌دهد که تعداد باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک در کشت غنی‌سازی ۱۲۸ برابر تعداد این باکتری‌ها در پساب ورودی و خروجی می‌باشد و این تعداد بالای باکتری‌ها در این نمونه غنی شده، کارایی بالای استفاده از کشت غنی شده را در حذف آمونیاک از پساب نشان می‌دهد. دونالدسن^۱ و هندرسن^۲ در سال ۱۹۸۹ از روش MPN به منظور شمارش تعداد باکتری‌های اتوتروف اکسید کننده آمونیاک استفاده کردند [۱۸].

۴- نتیجه گیری

در این تحقیق به منظور حذف آمونیاک از پساب کارخانه ذوب آهن اصفهان از فرآیند نیتروبیفیکاسیون استفاده شد. حذف آمونیاک با استفاده از نیتروبیفیکاتورهای غنی شده از پساب ورودی و خروجی در زمانهای مختلف انجام گرفت که میزان حذف در پساب خروجی نسبت به پساب ورودی در مدت زمان کوتاه‌تری صورت پذیرفت.

¹ Donaldson
² Henderson

۶- مراجع

- 1- Campos, J. M., Fernandez, J. M. G., Mendez, R., and Lema, J. M. (1999). "Nitrification at high ammonia loading rates in an activated sludge unit." *Bioresource Technology*, 68, 141-148.
- 2- Anthonisen, A. C., Loehr, R. C., Prakasan, T. B. S., and Srineth, E. G. (1976). "Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid." *J. Water Pollut. Control. Fed.*, 48, 35-52.
- 3- Strauss, E. A., and Lamberti, G. A. (2000). "Regulation of nitrification in aquatic sediments by organic carbon." *American Society Lim. Ocean.*, 45, 1854-1859.
- 4- Hagopian, D. S., and Riley, J. G. (1998). "A closer look at the bacteriology of nitrification." *Aquacultural engineering*, 18, 223-244.
- 5- Madigan, M. T., Martinko, J. M., and Parker, J. (2000). *Brock: biology of microorganisms*, Upper Saddle River, 9th Ed., New Jersey, 991.

علت کارایی بالاتر پساب خروجی نسبت به پساب ورودی نیز کاهش فنل در پساب خروجی و در نتیجه افزایش میزان نیتروبیفیکاسیون در پساب خروجی می‌باشد.

در محیط‌های مصنوعی با درصد آمونیاک مشابه پساب، حذف در مدت کوتاه‌تری انجام گرفت که تأیید کننده اثر بازدارنده فنل پساب بر روی فرآیند نیتروبیفیکاسیون می‌باشد.

استفاده از کشت غنی شده باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک روشی مفید در جهت افزایش کارایی حذف آمونیاک محسوب می‌شود. یون‌های کربنات و بی‌کربنات نیز به عنوان منبع کربن اتوتروف‌ها به محیط کشت آنها اضافه می‌شود و باعث افزایش میزان رشد نیتروبیفیکاتورها می‌شود.

نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری تعداد باکتری به روش MPN نیز حذف بهتر آمونیاک با حضور کشت غنی شده را تأیید می‌کند.

از نقاط قوت طرح می‌توان به تهیه کشت غنی شده باکتری‌های نیتروبیفیکاتور و به کارگیری آنها در حذف آمونیاک از پساب صنعتی اشاره کرد، که روشی با کارایی بالا در جهت حذف آمونیاک از این گونه پسابهاست. نتایج آزمایشگاهی اخذ شده در ارتباط با حذف آمونیاک تأییدی است بر تأثیر بازدارندگی فنل در میزان حذف آمونیاک و می‌تواند به اجرای صنعتی طرح کمک شایانی کند.

در ارتباط با نقاط ضعف این تحقیق می‌توان به این نکته اشاره کرد که در حوزه صنعت حضور عوامل بازدارنده‌ای همچون فصول مختلف، حضور باکتری‌های هتروتروف و تغییر در ترکیبات پساب کک می‌تواند کارایی سیستم را نسبت به مقیاس آزمایشگاهی کاهش دهد.

۵- قدردانی

از مسئولان کارخانه ذوب آهن اصفهان بالاخص مسئولان بخش تحقیقات و فناوری به دلیل کمکهای بسیار ایشان قدردانی می‌شود.

- 6- Bollman, A., and Laanbroek, H. J. (2001). "Continuous culture enrichment of ammonia-oxidizing bacteria at low ammonium concentration." *FEMS. Microbiol. Ecol.*, 37, 211-221.
- 7- Grommen, R., Hauteghem, I. V., Wambeke, M. V., and Verstraete, W. (2002). "An improved nitrifying enrichment to remove ammonium and nitrite from fresh water aquaria systems." *Aquaculture*, 211, 115-124.
- 8- Aleksieva, Z., Ivanova, D., Godjevargova, T., and Atanasov, B. (2002). "A degradation of some phenol derivatives by *Trichosporon cutaneum* R57." *Process Biochemistry*, 37, 1215-1219.
- 9- Yamagishi, T., Leite, J., Ueda, S., Yamaguchi, F., and Suwa, Y. (2001). "Simultaneous removal of phenol and ammonia by a activated sludge process with cross flow filtration." *Water. Res.*, 35, 3089-3096.
- 10- Komarkova, E., Paca, J., Klapkova, E., Stiborova, M., Soccol, C. R., and Sobotka, M. (2003). "Physiological changes of *Candida tropicalis* population degrading phenol in fed batch reactor." *Brazilian Archives Boil. Technol.*, 46, 537-543.
- 11- Shiemke, A. K., Arp, D. J., and Soto, L. A. S. (2004). "Inhibition of membrane-bound methane monooxygenase and ammonia monooxygenase by diphenyliodonium: implications for electron transfer." *J. Bacteriol.*, 186, 928-937.
- 12- Carrera, J., Baeza, J. A., Vicent, T., and Lafuente, J. (2003). "Biological nitrogen removal of high-strength ammonium industrial wastewater with two-sludge system." *Water Res.*, 37, 4211-4221.
- 13- Wett, B., and Rauch, W. (2003). "The role of inorganic carbon limitation in biological nitrogen removal of extremely ammonia concentrated wastewater." *Water Res.*, 37, 1100-1110.
- 14- Aakra, A., Utaker, J. B., Nes, I. F., and Bakken, L. R. (1999). "An evaluated improvement of the extinction dilution method for isolation of ammonia-oxidizing bacteria." *J. Microbiol. Methods*, 39, 23-31.
- 15- Jiang, Q. Q., and Bakken, L. R. (1999). "Comparison of nitrosospira strains isolated from terrestrial environments." *FEMS. Microbiol. Ecol.*, 30, 171-186.
- 16- Greenbery, A. E., Trussell, R. R., and Clesceri, L. S. (1985). *Standard methods for the examination of water and wastewater*, American Public Health Association, 16th Ed., Washington D.C.
- 17- Quintana, M. G., Didion, C., and Dalton, H. (1997). "Colorimetric method for a rapid detection of oxygenated aromatic biotransformation products." *Biotech. Techniques*, 11, 585-587.
- 18- Donaldson, J. M., and Henderson, G. S. (1989). "A dilute medium to determine population size of ammonium oxidizers in forest soils." *Soil Sci. Soc. Am.*, 53, 1608-1611.
- 19- Oblinger, J. L., and Koburger, J. A. (1975). "Understanding and teaching the most probable number technique." *J. Milk Food Technol.*, 38, 540-545.
- 20- Ruiz, G., Jeison, D., and Chamy, R. (2003). "Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration." *Water Res.*, 37, 1371-1377.
- 21- Waston, S. W., Bock, E., Harms, H., Koops, H. P. and Hooper, A.B. (1989). Ammonia-oxidizing bacteria. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. (Staley, J. T., Bryant, M. P., Pfennig, N. and Holt, J. G.). Williams and Wilkins, Baltimore, Vol. 3, 1818-1833.
- 22- Kuai, L., and verstraete, W. (1998). "Ammonium removal by the oxygen-limited autotrophic nitrification-denitrification system." *Appl. Environ. microbiol.*, 64, 4500-4506.