



# Investigation of the Biodegradation of Diazinon by Aerobic Granules in Sequencing Batch Reactor

Hadieh Mikaeilzadeh<sup>1</sup>, Gholam Khayati<sup>2\*</sup>

1. PhD. Student of Chemical Engineering, Dept. of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Guilan, Rasht, Iran

2. Assoc. Prof., Dept. of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Guilan, Rasht, Iran (Corresponding Author) [khayatiir@googlemail.com](mailto:khayatiir@googlemail.com) and [khayati@guilan.ac.ir](mailto:khayati@guilan.ac.ir)



<https://doi.org/10.22093/wwj.2025.517795.3483>

Original Paper

## Abstract

Diazinon is an organophosphate insecticide widely used in agriculture. Its persistence and toxicity in aquatic environments pose significant risks to both ecosystems and public health. Recently, biodegradation has emerged as an effective and sustainable method for pollutant removal. In this study, the potential for aerobic granule formation from diazinon-adapted activated sludge was evaluated in a sequencing batch reactor. During the adaptation phase, a reactor with a working volume of 1200 mL was inoculated with activated sludge. Initially, glucose was used as the carbon source, which was gradually replaced with diazinon. After 11 weeks, diazinon with a COD concentration of 300 mg/L was used as the sole carbon source. The entire adaptation period, considering the removal of carbon, nitrogen, and phosphorus, lasted 14 weeks. Subsequently, aerobic granule formation was carried out in an SBR with a working volume of 0.8 L, operated in 6-hour cycles for 60 days at ambient temperature and pH = 7 ± 0.2 (adjusted using sulfuric acid and sodium hydroxide). Aeration and mixing were provided by an air pump at a velocity of 5 cm/s. During the adaptation phase, a removal efficiency of 72.33% was achieved at an influent concentration of 300 mg COD/L. After granule formation, the removal efficiency increased to 94.33% under the same conditions. Brown-colored aerobic granules up to 3 mm in diameter formed, with an SVI<sub>30</sub>/SVI<sub>5</sub> ratio of 0.96. The protein-to-polysaccharide (PN/PS) ratio reached 1.64, indicating good structural cohesion. The results of this study indicate that aerobic granules derived from activated sludge, adapted to diazinon, have a high potential for the biological removal of this pollutant. These findings can serve as an effective and sustainable solution for treating diazinon-contaminated wastewater on an industrial scale and for reducing the environmental impacts of this toxin in water resources.

**Keywords:**  
Diazinon, Aerobic Granules, Sequencing Batch Reactor, Wastewater Treatment, Organophosphate Pesticide.



Received: Oct. 21, 2024

Revised: Nov. 12, 2024

Accepted: Dec. 20, 2024

### To cite this article:

Mikaeilzadeh, H. and Khayati, Gh., 2025. Investigation of the biodegradation of diazinon by aerobic granules in sequencing batch reactor. *Water and Wastewater*, 35(5), 74-87. <https://doi.org/10.22093/wwj.2025.517795.3483>.

Use your device to scan and read the article online



© The Author(s).

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)



## 1. Introduction

Human exposure to pesticides like organophosphate diazinon, known for its neurotoxicity via acetylcholinesterase inhibition, poses significant health risks—even at trace levels—in water (Dargahi et al., 2019; Pirsahab et al., 2014; Samarghandi et al., 2019). Diazinon, moderately hazardous per the World Health Organization<sup>1</sup> and persistent in urban waters, has traditionally been removed by physical and chemical methods (Drufovka et al., 2008; Xu et al., 2013).

Recently, aerobic granular sludge<sup>2</sup> in sequencing batch reactors<sup>3</sup> has shown promise for efficient, resilient biological removal of such pollutants alongside simultaneous nutrient removal (Chen et al., 2024; Truong and Bui, 2023; Desireddy et al., 2022). Microbial adaptation in these systems enhances contaminant degradation under stress, supported by Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> for granule stability (Kang et al., 2024; Guo et al., 2022; Liu et al., 2010). This study developed a stepwise adaptation replacing glucose with diazinon to cultivate robust biomass, with AGS evaluated for biomass concentration, settling ability, EPS content, and COD removal efficiency at ambient temperature and pH=7±0.2, providing valuable insights for optimizing organophosphate wastewater treatment.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Seed sludge and materials

Diazinon (98% purity) was sourced from Tif Sabz Company, and other chemicals (99% purity) from Merck, Germany. Activated sludge<sup>4</sup> was collected from the secondary clarifier of the Aria Hospital wastewater treatment plant in Rasht. All experiments were conducted at ambient temperature, pH=7±0.2, and dissolved oxygen of 2 mg/L.

### 2.2. Adaptation phase

AS with a mixed liquor suspended solids<sup>5</sup> concentration of 4.18 g/L and a Mixed Liquor Volatile Suspended Solids<sup>6</sup>/MLSS ratio of 0.7 was introduced into an SBR with a 1200 mL working volume. Glucose was initially used as the carbon source and gradually replaced by diazinon, which became the sole carbon source after 11 weeks, completing a 14-week adaptation period. The nutrient ratio of C:N:P was

maintained at 100:5:1. Hydraulic retention time<sup>7</sup> was set at 48 hours, settling time at 1 hour, with a 50% exchange volume.

### 2.3. Granulation phase

A 0.8 L cylindrical SBR was used to form AGS, inoculated with diazinon-adapted AS (MLVSS 3 g/L). Synthetic wastewater with glucose, Ca<sup>2+</sup>, and Mg<sup>2+</sup> was fed in 6-hour cycles. Settling time was gradually shortened and aeration time increased to promote granulation, improving selection of fast-settling microbes, biomass density, and system stability.

### 2.4. Evaluation of granules for diazinon removal

To assess diazinon removal by AGS, a period with simultaneous feeding of diazinon and glucose at an HRT of 48 hours was conducted to prevent toxic shock. After 9 days, diazinon was supplied as the sole carbon source at concentrations matching the adaptation phase to enable comparison of pollutant removal between granules and AS.

### 2.5. Analytical methods

COD, pH, MLSS, MLVSS, and sludge volume index<sup>8</sup> were regularly measured following standard procedures (APHA, 2005). Extracellular polymeric substances<sup>9</sup> from granules was extracted ultrasonically (Felz et al., 2016) and polysaccharides<sup>10</sup> and proteins<sup>11</sup> were quantified using phenol-sulfuric acid (Dubois et al., 2002) and Bradford assays (Kielkopf et al., 2020). Total EPS was calculated by summing protein and polysaccharide contents.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Adaptation process

Diazinon concentration was gradually increased from 25 to 300 mg COD/L over 14 weeks to avoid toxic shock. Early toxicity caused decreased COD removal despite rising MLSS, with a critical toxicity threshold between 100–150 mg COD/L. Eventually, microbial adaptation stabilized COD removal (72.33%) and MLSS growth up to 6340 mg/L as glucose was fully replaced by diazinon (Fig. 1). Compared to prior research, this biological method achieved satisfactory diazinon removal at higher concentrations, while advanced oxidation methods excelled only at lower levels (Toolabi et al., 2018).

<sup>1</sup> World Health Organization (WHO)

<sup>2</sup> Aerobic Granular Sludge (AGS)

<sup>3</sup> Sequencing Batch Reactors (SBRs)

<sup>4</sup> Activated Sludge (AS)

<sup>5</sup> Mixed Liquor Suspended Solids (MLSS)

<sup>6</sup> Mixed Liquor Volatile Suspended Solids (MLVSS)

<sup>7</sup> Hydraulic Retention Time (HRT)

<sup>8</sup> Sludge Volume Index (SVI)

<sup>9</sup> Extracellular Polymeric Substances (EPS)

<sup>10</sup> Polysaccharides (PS)

<sup>11</sup> Proteins (PN)



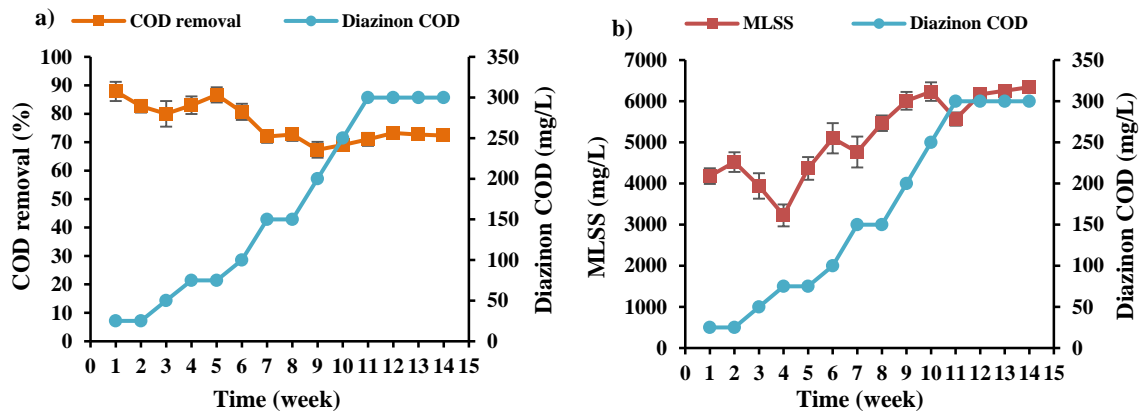


Fig. 1. a) Changes in COD and b) MLSS concentrations in relation to changes in diazinon COD concentration at ambient temperature and  $\text{pH}=7\pm 0.2$

### 3.2. Granulation process

The feeding cycle in granulation was 6 hours, and settling time was gradually reduced from 10 to 5, then to 1 minute to select particles with better settling and wash out poorly settling sludge. These changes promoted formation of dense, larger AGS.  $\text{SVI}_{30}$  and  $\text{SVI}_5$  indices were used to evaluate granule quality, and the  $\text{SVI}_{30}/\text{SVI}_5$  ratio close to 1 indicated improved settling and compact granules (Silva et al., 2022; Castellanos et al., 2021; Shahriari and Khayati, 2024). After 60 days, significant decreases in  $\text{SVI}_{30}$  and  $\text{SVI}_5$  and an increase in  $\text{SVI}_{30}/\text{SVI}_5$  to 0.96 indicated transition from flocculent process (Fig. 2).

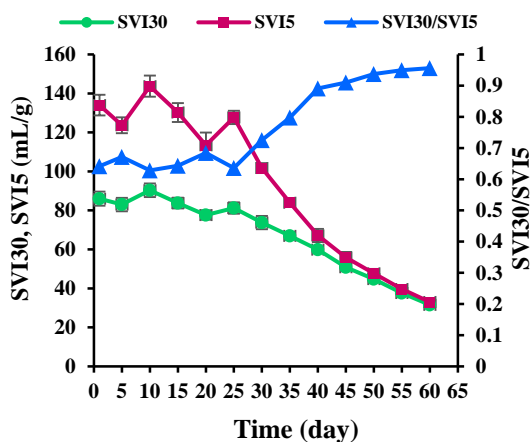


Fig. 2. Values of  $\text{SVI}_{30}$ ,  $\text{SVI}_5$  and  $\text{SVI}_{30}/\text{SVI}_5$  in the granulation process in the aerobic bioreactor process at ambient temperature and  $\text{pH}=7\pm 0.2$

### 3.3. EPS concentration

EPS, composed of PS, PN and other macromolecules, is secreted by microorganisms (Ding et al., 2015). During granulation, both EPS quantity and the PN/PS ratio increased, reflecting higher PN growth compared to PS and enhanced granule formation. The increase in hydrophobic

PN improved granule stability and structural strength (De Sousa Rollemberg et al., 2022; Xu et al., 2025). The PN/PS ratio of about 1.64 in this study highlighted PN's key role in maintaining granule stability and balanced PS for EPS matrix formation. The values of PN, PS and PN/PS are given in Table 1.

Table 1. PN, PS, PN/PS and EPS content in AS and aerobic granules

System	EPS (mg/g MLVSS)			
	$\text{EPS}_{\text{tot}}$	PS	PN	PN/PS
AS	$31.23\pm 1.55$	$16\pm 0.82$	$15.23\pm 0.45$	0.95
AGS	$61.46\pm 2.34$	$23.23\pm 0.95$	$38.23\pm 1.2$	1.64

### 3.4. Diazinon removal by AGS

AGS adapted to increasing diazinon concentrations, maintaining stable removal (94.33%) after two weeks. Their dense structure, diverse microbes, and protective EPS (with higher PN/PS ratio) enhanced toxin resistance and biodegradation, resulting in better COD, nitrogen, and phosphorus removal than AS systems due to their structural and biological advantages.

## 4. Conclusion

The study demonstrated that AGS developed from diazinon-adapted AS provide an effective approach for removing this pollutant. Over 14 weeks of adaptation, COD removal reached 72.33%, and after 60 days, dense granules with favorable settling rates and an  $\text{SVI}_{30}/\text{SVI}_5$  ratio of 0.96 were formed. COD removal by granules increased to 94.33%, indicating their high biological activity. A PN/PS ratio of 1.64 reflected structural cohesion of the granules. Gradual carbon source replacement helped maintain granule stability against diazinon shocks.





## بررسی تجزیه زیستی دیازینون توسط گرانول‌های هوازی در راکتور ناپیوسته متوالی

هادیه میکائیل‌زاده<sup>۱</sup>، غلام خیاطی<sup>۲\*</sup>

۱- دانشجوی دکترای مهندسی شیمی، گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران  
۲- دانشیار، گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران  
(نویسنده مسئول) [khavatiir@googlemail.com](mailto:khavatiir@googlemail.com) و [khavati@guilan.ac.ir](mailto:khavati@guilan.ac.ir)



<https://doi.org/10.22093/wwj.2025.517795.3483>

مقاله پژوهشی

### چکیده

واژه‌های کلیدی:  
دیازینون، گرانول‌های  
هوازی، راکتور ناپیوسته  
متوالی، تصفیه پساب،  
آفت‌کش ارگانوفسفره

دیازینون، یک حشره‌کش ارگانوفسفره است که به‌طور گسترده‌ای در کشاورزی استفاده می‌شود. پایداری و سمیت بالای این ترکیب در محیط‌های آبی، خطرات قابل‌توجهی برای محیط‌زیست و سلامت جامعه ایجاد می‌کند. در سال‌های اخیر، تجزیه زیستی به‌عنوان روشی مؤثر و پایدار برای حذف آلاینده‌ها مورد توجه قرار گرفت. در این پژوهش، پتانسیل تشکیل گرانول‌های هوازی از لجن فعال سازگار شده با دیازینون در SBR ارزیابی شد. در مرحله سازگارسازی، راکتوری با حجم کاری  $1200$  میلی‌لیتر با لجن فعال تلقیح شد. ابتدا منبع کربن گلوکز بود که به تدریج با دیازینون جایگزین شد. پس از ۱۱ هفته، دیازینون با غلظت COD معادل  $300$  میلی‌گرم در لیتر به‌عنوان تنها منبع کربن استفاده شد. کل دوره سازگارسازی با توجه به حذف کربن، نیتروژن و فسفر، ۱۴ هفته به طول انجامید. پس از آن، فرایند تشکیل گرانول‌های هوازی در راکتور SBR با حجم کاری  $800$  لیتر، طی چرخه‌های ۶ ساعته به مدت  $60$  روز، در دمای محیط و  $\text{pH}$  برابر  $7 \pm 0.2$  (تنظیم شده با اسید سولفوریک و هیدروکسید سدیم) انجام شد. هوادهی و اختلاط با پمپ هوا و سرعت  $5$  سانتی‌متر بر ثانیه تأمین شد. در مرحله سازگارسازی، میزان حذف دیازینون در غلظت ورودی  $300$  میلی‌گرم COD در لیتر  $72/33$  درصد به‌دست آمد. پس از تشکیل گرانول‌های هوازی، این میزان به  $94/33$  درصد افزایش یافت. گرانول‌های قهوه‌ای‌رنگ با اندازه حداکثر  $3$  میلی‌متر و نسبت  $\text{SVI}_{30}/\text{SVI}_5$  برابر  $0.96$  تشکیل شدند. نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید در گرانول‌های هوازی به  $1/64$  رسید که نشان‌دهنده انسجام مناسب ساختاری بود. نتایج این پژوهش نشان داد گرانول‌های هوازی حاصل از لجن فعال سازگار شده با دیازینون، پتانسیل بالایی برای حذف زیستی این آلاینده دارند. این یافته‌ها می‌تواند به‌عنوان راهکاری مؤثر و پایدار برای تصفیه پساب‌های آلوده به دیازینون در مقیاس صنعتی و کاهش اثرات زیست‌محیطی این سم در منابع آبی استفاده شود.



دریافت: ۱۴۰۳/۷/۳۰

اصلاح: ۱۴۰۳/۸/۲۲

پذیرش: ۱۴۰۳/۹/۳۰

از دستگاه خود برای اسکن و خواندن مقاله به صورت آنلاین استفاده کنید



برای ارجاع به این مقاله به صورت زیر اقدام بفرمایید:

میکائیل‌زاده، ه.، خیاطی، غ.، ۱۴۰۳، بررسی تجزیه زیستی دیازینون توسط گرانول‌های هوازی در راکتور ناپیوسته

متوالی، آب و فاضلاب، ۳۵(۵)، ۷۴-۸۷.

<https://doi.org/10.22093/wwj.2025.517795.3483>



© The Author(s).

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)



## ۱- مقدمه

به دلیل استفاده گسترده از آفت‌کش‌های مختلف، قرار گرفتن انسان در معرض این آفت‌کش‌ها تقریباً اجتناب‌ناپذیر است و این موضوع می‌تواند خطر اثرات نامطلوب بر سلامت انسان، از جمله سرطان‌زایی و جهش‌زایی را افزایش دهد (Dargahi et al., 2019).

(Pirsaheb et al., 2014, Samarghandi et al., 2019)

پژوهش‌های سم‌شناسی نشان داده‌اند که بقایای آفت‌کش‌ها حتی در غلظت‌های بسیار کم (میلی‌گرم یا نانوگرم در لیتر) در آب آشامیدنی می‌تواند منجر به سمیت سلولی، جهش‌زایی، ناهنجاری‌های ژنتیکی، اختلالات عصبی و آسیب به سیستم ایمنی و اختلالات عدد درون‌ریز برای پستانداران شود (Colovic et al., 2010, Cycon et al., 2013, Li et al., 2015). ارگانوفسفره مانند دیازینون، با مهار آنزیم استیل‌کولین‌استراز به عنوان عوامل شیمیایی مؤثر بر سیستم عصبی شناخته می‌شوند (Pirsaheb et al., 2014).

دیازینون، O، O- دی اتیل O- (۲- ایزوپروپیل-۶- متیل پیریمیدین-۴- ایل) تیوفوسفات، یکی از پر مصرف‌ترین حشره‌کش‌های ارگانوفسفره است که از سال ۱۹۵۲ به طور تجاری تولید می‌شود (Drufovka et al., 2008). این ترکیب توسط سازمان بهداشت جهانی<sup>۱</sup> به عنوان ماده‌ای با خطر متوسط (کلاس II) طبقه‌بندی شده است. دوز کشنده<sup>۲</sup> خوراکی آن برای موش‌های صحرایی، ۱۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شده است. علاوه بر این، غلظت‌های باقیمانده بالای دیازینون (۰/۴۱ تا ۱ میلی‌گرم در لیتر) در آبراهه‌های شهری و پساب‌های خروجی از تصفیه‌خانه‌های فاضلاب یافت شده است (Bailey et al., 2000) که به دلیل پایداری زیاد، اثرات زیست‌محیطی قابل توجهی دارد. بنابراین، ضروری است که روش‌های مؤثر برای حذف بقایای دیازینون در محیط آبی کشف و به کار گرفته شوند. تا به امروز، برای حذف دیازینون از پساب، روش‌هایی مانند لخته‌سازی، تجزیه فوتوکاتالیستی، جذب سطحی، استفاده از ازن و اکسیداسیون به کار گرفته شده‌اند (Xu et al., 2013).

جذب دیازینون در اجزای خاک می‌تواند قابل توجه باشد؛ برای مثال، مونتموریلونیت اصلاح شده با آهن تا ۵۸/۸ میلی‌مول بر

کیلوگرم دیازینون جذب کرد که نشان‌دهنده پتانسیل آن برای جذب دیازینون است (Kabwadza-Corner et al., 2014). در مطالعات جذب ناپیوسته، جذب دیازینون از ایزوترم لانگمیر با ظرفیت جذب بین ۰/۸ تا ۱/۰۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر پیروی کرد و در عرض ۲ تا ۶ ساعت به تعادل رسید که نشان‌دهنده سینتیک جذب سریع و کارآمد در ماتریس خاک است (Al-Farttoosy, 2021).

در سال‌های اخیر، پژوهش‌های متعددی به بررسی حذف آفت‌کش‌ها با استفاده از فناوری‌های زیستی به ویژه استفاده از لجن گرانولی هوزی در راکتور ناپیوسته‌ی متوالی<sup>۳</sup> پرداخته‌اند. گرانول‌های هوزی ساختارهای مترکم و کروی از میکروارگانیسم‌ها هستند که در فرایندهای تصفیه بیولوژیکی فاضلاب تحت شرایط هوزی تشکیل می‌شوند و به دلیل کارایی بالای حذف، تولید لجن کمتر، تحمل شوک‌های آلی و قابلیت ته‌نشینی سریع مورد توجه قرار گرفته‌اند (Chen et al., 2024, Truong and Bui, 2023).

علاوه بر این، گرانول‌ها پایداری بیشتری در مقابل آلاینده‌های مقاوم و سموم دارند و می‌توانند حذف هم‌زمان اکسیژن‌خواهی شیمیایی<sup>۴</sup>، نیتروژن و فسفر را با کارایی زیاد (تا ۹۳/۷ درصد برای COD و ۹۱ درصد برای نیتروژن) انجام دهند (Chen et al., 2022, Desiredy et al., 2024). گرانول‌های هوزی تحمل بیشتری نسبت به سموم و فلزات سنگین را نیز در انواع مختلف فاضلاب دارند (Truong Thi Bich, 2023).

گونه‌های میکروبی مانند *Ochrobactrum sp.*، *Serratia* و *Lactobacillus brevis*، *Stenotrophomonas sp.* *marcescens* به عنوان گونه‌های مؤثر در تجزیه دیازینون شناسایی شده‌اند که از آنزیم‌هایی مانند هیدرولاز، اسید فسفاتاز و سیتوکروم برای تجزیه این ترکیب استفاده می‌کنند (Wu et al., 2021).

پژوهش‌ها نشان داده‌اند که میکروارگانیسم‌های سازگار شده با جوامع میکروبی خاص، در سیستم‌هایی مانند SBRها و راکتورهای چرخشی میکروفشار<sup>۵</sup> تحمل زیادی در برابر شوک‌های بار آلی دارند که قابلیت حذف زیادی از آلاینده‌ها را نشان می‌دهند. همچنین، SBRها به دلیل انعطاف‌پذیری عملیاتی، امکان کنترل دقیق شرایط فرایند و قابلیت اعمال شوک‌های مختلف، گزینه

<sup>3</sup> Sequencing Batch Reactor (SBR)

<sup>4</sup> Chemical Oxygen Demand (COD)

<sup>5</sup> Micro-Pressure Swirl Reactor (MPSR)

<sup>1</sup> World Health Organization (WHO)

<sup>2</sup> Lethal Dose 50 (LD<sub>50</sub>)



## ۲-۲- مرحله سازگارسازی

در این مرحله از فرایند لجن فعال با مقدار جامدات معلق مخلوط در مایع<sup>۳</sup> به غلظت ۴/۱۸ گرم در لیتر و نسبت MLSS به جامدات معلق فرار مایع مخلوط<sup>۴</sup> (MLVSS/MLSS)، برابر ۰/۷ به راکتور ناپیوسته متوالی با حجم کاری ۱۲۰۰ میلی لیتر تلقیح شد. در ابتدا، منبع کربن برای مرحله سازگارسازی گلوکز و به تدریج دیازینون بود. پس از گذشت ۱۱ هفته، فقط سم دیازینون در پساب سنتزی به عنوان منبع کربن استفاده شد و کل دوره سازگارسازی با در نظر گرفتن میزان حذف کربن و نیتروژن و فسفر ۱۴ هفته به طول انجامید. مقدار کربن، آمونیوم کلراید و پتاسیم دی هیدروژن فسفات با نسبت ۱:۵:۱۰ استفاده شد. زمان ماند هیدرولیکی بیوراکتور<sup>۵</sup> ۴۸ ساعت و زمان ته نشینی ۱ ساعت در نظر گرفته شد. HRT ۴۸ ساعت و زمان ته نشینی ۱ ساعت در مرحله سازگارسازی، بر پایه مطالعات پیشین در زمینه تجزیه ترکیبات دیرتخریب پذیر مانند آفت کش های ارگانوفسفره طراحی شد (Abdi et al., 2025). نسبت تبادل حجمی ۵۰ درصد اعمال شد. اختلاط و هوادهی از طریق پمپ هوا مدل AC9906 با ظرفیت ۱۴ لیتر بر دقیقه و سنگ های هوای تعبیه شده در کف بیوراکتورها انجام شد. نمونه گیری برای آنالیزهای آزمایشگاهی از سطح رویی فاضلاب ته نشین شده انجام شد.

## ۲-۳- مرحله تشکیل گرانول

در این مرحله، از راکتور استوانه ای شیشه ای (شکل ۱) به عنوان SBR با ارتفاع ۲۵ سانتی متر و قطر ۸/۵ سانتی متر و نسبت ارتفاع به قطر (H/D) حدود ۳ استفاده شد. حجم کاری راکتور، ۰/۸ لیتر بود. هوادهی و اختلاط به مانند مرحله سازگارسازی، از طریق پمپ هوا با سرعت ۵ سانتی متر بر ثانیه تأمین شد. از اسید سولفوریک ۹۸ درصد و محلول هیدروکسید سدیم ۵۰ درصد برای تنظیم pH برابر ۰/۲±۷ استفاده شد. برای تشکیل گرانول، بیوراکتور با لجن فعال سازگار به سم دیازینون حاوی ۳ گرم در لیتر MLVSS، نسبت MLVSS/MLSS برابر ۰/۷۵ و شاخص حجمی لجن ۳۰

مناسبی برای بررسی فرایند گرانول سازی و حذف آلاینده های مقاوم به شمار می رود (Kang et al., 2024). در برخی پژوهش ها، نقش یون های کلسیم ( $Ca^{2+}$ ) و منیزیم ( $Mg^{2+}$ ) در بهبود گرانول سازی و پایداری ساختاری آن ها بررسی شده است (Guo et al., 2022; Liu et al., 2010).

در این پژوهش، برای نخستین بار فرایند سازگارسازی لجن فعال با سم دیازینون به گونه ای طراحی شد که دیازینون به تدریج جایگزین منبع کربنی معمول (گلوکز) شده و در نهایت، به عنوان تنها منبع کربن استفاده شد. این روش منجر به تشکیل زیست توده ای با توانایی مقاومت زیاد در برابر ترکیبات سمی شد. نوآوری دیگر این پژوهش، تشکیل موفق گرانول های هوازی از لجن فعال سازگار به دیازینون و تحلیل دقیق رفتار سیستم از نظر پارامترهایی همچون غلظت زیست توده، قابلیت ته نشینی لجن، میزان غلظت پلیمر خارج سلولی<sup>۱</sup> و میزان حذف COD بود. همچنین، یافته های پژوهش با بررسی محدودیت های عملیاتی مانند دما و pH و ارائه پیشنهاداتی برای بهینه سازی فرایند، زمینه ساز توسعه کاربردهای صنعتی این فناوری در تصفیه پساب های کشاورزی آلوده به آفت کش های ارگانوفسفره خواهد بود.

## ۲- مواد و روش ها

### ۲-۱- بذر لجن و مواد

سم دیازینون شرکت سیگما آلد ریچ با خلوص ۹۸ درصد، از شرکت طیف سبز در شهر اشتهارد استان البرز تهیه شد. تمام مواد شیمیایی به کار رفته از شرکت مرک آلمان با درجه خلوص ۹۹ درصد بود. برای تنظیم pH نیز از اسید سولفوریک و هیدروکسید سدیم ۹۸ درصد شرکت مرک آلمان استفاده شد. لجن فعال از ته نشین کننده ثانویه تصفیه خانه فاضلاب بیمارستان آریای رشت جمع آوری شد. با هوادهی ۲۴ ساعته لجن فعال، از حذف تمام ترکیبات آلی موجود در آن اطمینان حاصل شد. سپس لجن فعال، به مدت دو هفته با فاضلاب سنتزی حاوی گلوکز (به عنوان منبع کربن) و آمونیوم کلرید و پتاسیم دی هیدروژن فسفات (به ترتیب به عنوان منبع نیتروژن و فسفر) تغذیه شد. تمام فرایندها در دمای محیط، pH برابر ۰/۲±۷ و مقدار اکسیژن محلول<sup>۲</sup> برابر ۲ انجام شد.

<sup>3</sup> Mixed Liquor Suspended Solids (MLSS)

<sup>4</sup> Mixed Liquor Volatile Suspended Solids (MLVSS)

<sup>5</sup> Hydraulic Retention Time (HRT)

<sup>1</sup> Extracellular Polymeric Substances (EPS)

<sup>2</sup> Dissolved Oxygen (DO)



انتخاب شد.

## ۲-۵- روش‌های آنالیز

پارامترهای COD، pH، MLSS، MLVSS و SVI به ترتیب مطابق با بخش‌های 2710D و 2540E، 2540D، 4500H<sup>+</sup>B، 5220D روش استاندارد به‌طور منظم و دقیق اندازه‌گیری شدند (APHA، 2005) برای اندازه‌گیری COD، ۳/۵ میلی‌لیتر شناساگر اسید، ۱/۵ میلی‌لیتر هاضم و ۲/۵ میلی‌لیتر نمونه مورد نظر با دقت بسیار زیاد داخل ویال‌های ۱۰ میلی‌متری مخصوص تزریق و داخل دستگاه ترموراکتور (Germany 125, AL Aqualytic) به مدت ۲ ساعت برای حرارت‌دهی برای هضم قرار گرفت. پس از خروج نمونه‌ها از ترموراکتور و رسیدن به دمای محیط، توسط دستگاه فوتومتر (Germany 100, AL Aqualytic) میزان COD نمونه به دست آمد. برای اندازه‌گیری میزان MLSS، نمونه پساب حین هوادهی را از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور داده و داخل آون به دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس به مدت ۲ ساعت خشک و سپس وزن شد. با قرار دادن کاغذ صافی داخل کوره به دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس، زمان ۴۵ دقیقه و وزن دوباره مقدار MLVSS به دست آمد. تمام اندازه‌گیری‌ها توسط ترازو با دقت  $\pm 0.0001$  انجام شد.

میزان EPS در گرانول‌ها از طریق روش فراصوتی<sup>۲</sup> استخراج شد (Felz et al., 2016). در این روش، ۳ گرم (وزن مرطوب) لجن گرانولی هوازی در ۵۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به حالت تعلیق درآمد و برای جلوگیری از گرم شدن بیش از حد، به مدت ۲/۵ دقیقه روی یخ تحت دستگاه فراصوت پالسی با قدرت ۴۰ وات قرار گرفت. سپس مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه در سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. مایع رویی حاوی EPS استخراج شده برای تجزیه و تحلیل بیشتر جمع‌آوری شد. تمام استخراج‌ها در سه تکرار انجام شد. محتوای پلی‌ساکاریدها<sup>۳</sup> و پروتئین‌ها<sup>۴</sup> در گرانول‌های هوازی به ترتیب با استفاده از روش فنول-اسید سولفوریک با گلوکز به‌عنوان استاندارد (Dubois et al., 2002) و روش برادفورد با آلبومین سرم گاوی به‌عنوان استاندارد (Kielkopf et al., 2020)، اندازه‌گیری شد. مقدار کلی

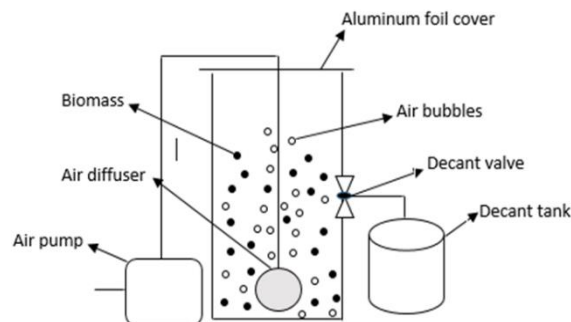


Fig. 1. Schematic of a laboratory pilot

شکل ۱- شماتیکی از پایلوت آزمایشگاهی

دقیقه‌ای<sup>۱</sup>، ۸۶ میلی‌لیتر برگرم تلقیح شد. پساب سنتزی حاوی گلوکز (۶۰۰ میلی‌گرم COD در لیتر)،  $\text{CaCl}_2$  و  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (۴۰ میلی‌گرم در لیتر  $\text{Ca}^{2+}$  و  $\text{Mg}^{2+}$ ) در طول چرخه خوراک‌دهی ۶ ساعته (۵ دقیقه پر شدن، ۳۴۰ تا ۳۴۹ دقیقه هوادهی، ۱ تا ۱۰ دقیقه ته‌نشینی و ۵ دقیقه تخلیه) با نسبت تبادل حجمی ۵۰ درصد افزوده شد. زمان ته‌نشینی به تدریج کاهش یافت و به همین دلیل زمان هوادهی برای حفظ زمان چرخه، افزایش پیدا کرد. تمام نمونه‌گیری‌ها در انتهای فاز ته‌نشینی انجام شد. کاهش تدریجی زمان ته‌نشینی در مرحله تشکیل گرانول‌های هوازی با هدف انتخاب و حفظ میکروارگانیسم‌هایی با قابلیت تجمع و ته‌نشینی سریع‌تر انجام شد. این رویکرد باعث حذف لخته‌های سبک و پراکنده، تسریع فرایند گرانول‌سازی، افزایش دانسیته زیست‌توده، بهبود پایداری و افزایش کارایی سیستم می‌شود (Hamiruddin et al., 2021).

## ۲-۴- بررسی تأثیر گرانول‌ها در حذف دیازینون

برای بررسی میزان حذف دیازینون توسط گرانول‌های هوازی، یک دوره خوراک‌دهی دیازینون و گلوکز بر روی گرانول‌ها در ۴۸ HRT ۴۸ ساعت، انجام شد. به‌کارگیری گلوکز به‌همراه دیازینون به‌عنوان منبع کربن، برای جلوگیری از شوک ناگهانی ناشی از سم و تغییر چرخه خوراک‌دهی بود. پس از گذشت ۹ روز، دیازینون به‌عنوان تنها منبع کربن به گرانول‌ها افزوده شد. غلظت دیازینون معادل غلظت مقدار سازگار شده لجن فعال در مرحله سازگاری بود که برای مقایسه میزان حذف آلاینده توسط گرانول‌ها و لجن فعال سازگار شده

<sup>2</sup> Sonication

<sup>3</sup> Polysaccharide (PS)

<sup>4</sup> Proteins (PN)

<sup>1</sup> Sludge Volume Index in Thirty Minutes (SVI<sub>30</sub>)



EPS با جمع کردن مقدار PN و PS محاسبه شد.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- فرایند سازگار سازی لجن فعال به دیازینون

تغییرات غلظت دیازینون برای انجام فرایند سازگار سازی، ابتدا به تدریج و در فاصله زمانی دو هفته انجام شد تا از شوک ناگهانی ناشی از سم دیازینون جلوگیری شود. غلظت دیازینون به تدریج از ۲۵ به ۳۰۰ mg COD/L طی ۱۱ هفته افزایش یافت و تا هفته ۱۴م در غلظت ۳۰۰ mg COD/L ادامه پیدا کرد. تغییرات غلظت COD دیازینون نسبت به درصد حذف COD در شکل ۲-a و میزان MLSS در شکل ۲-b در دمای محیط و pH برابر ۷±۰/۲ نمایش داده شده است. در هفته دوم، مقدار MLSS افزایش جزئی داشت. اما درصد حذف COD کاهش یافت که نشان دهنده تأثیر سم دیازینون در جامعه میکروبی و حذف کمتر دیازینون در ابتدای فرایند بود. در دوره سازگار سازی با وجود ۱۲ برابر شدن غلظت دیازینون (۲۵ تا ۳۰۰ میلی گرم COD در لیتر)، سیستم درصد حذف COD قابل قبولی را حفظ کرد. کاهش شدید در حذف COD بین هفته‌های ۷ تا ۱۰ نشان دهنده یک آستانه سمیت در حدود ۱۰۰ تا ۱۵۰ میلی گرم در لیتر COD دیازینون بود که فراتر از آن، سیستم بیولوژیکی دچار استرس شد.

با توجه به شکل‌های ۲-a و ۲-b، تثبیت درصد حذف COD و میزان رشد MLSS در هفته‌های پایانی، نشان دهنده سازگاری موفقیت آمیز با غلظت‌های بالای دیازینون بود. جایگزینی تدریجی گلوکز با دیازینون به عنوان منبع کربن موفقیت آمیز بود، به طوری که زیست توده در نهایت از دیازینون هم به عنوان منبع کربن استفاده کرد و هم با حضور آن سازگار شد. تغییرات اندکی در غلظت MLSS در هفته‌های اولیه مشاهده شد که به دلیل پایین بودن غلظت دیازینون بود. بنابراین، لجن فعال می‌تواند غلظت‌های پایین دیازینون را بدون استرس قابل توجهی تحمل کند که به دلیل وجود گلوکز (منبع اصلی کربن و انرژی) است. بیشترین افت در مقدار MLSS در هفته‌های ۳ تا ۴ رخ داد که به دلیل افزایش غلظت COD دیازینون تا ۷۵ میلی گرم در لیتر و شروع مهار رشد میکروبی بود. با گذر زمان، رشد جامعه میکروبی مشاهده شد که نشان دهنده سازگاری میکروارگانیسم‌ها و مقاومت آن‌ها در برابر دیازینون بود.

در انتهای فرایند سازگار سازی، مقدار درصد حذف COD به ۷۲/۳۳ و MLSS به ۶۳۴۰ mg/L رسید. مقدار حذف آلاینده آلی، فسفر و نیتروژن آمونیاکی سیستم سازگار به دیازینون در جدول ۱ گزارش شده است.

برای مقایسه میزان تجزیه زیستی دیازینون با پژوهش‌های پیشین، می‌توان به بررسی مقدار تجزیه زیستی سویه *Sphingobium sp. DI-6* استخراج شده از خاک آلوده به دیازینون اشاره کرد که در آن ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر از دیازینون طی ۶۰ ساعت به مقدار ۹۱/۸ درصد تجزیه شد (Wang et al., 2022). در پژوهش کنونی، میزان حذف دیازینون با غلظت بیشتر در لجن فعال بررسی شد که درصد حذف قابل قبولی نیز به دست آمد. در پژوهشی دیگر، مقدار حذف دیازینون در غلظت‌های بسیار کمتر (۱ تا ۴۰ میلی گرم در لیتر) به روش اکسیداسیون پیشرفته با استفاده از فوتوکاتالیز به ۸۵ تا ۹۲ درصد رسید که نیاز به افزودنی‌های شیمیایی مانند پراکسید هیدروژن و نانوذرات داشت (Toolabi et al., 2018).

#### ۳-۲- فرایند تشکیل گرانول

چرخه خوراک دهی در طی فرایند گرانول سازی، ۶ ساعت در نظر گرفته شد. زمان ته نشینی از ۱۰ به ۵ دقیقه در هفته دوم و از ۵ به ۱ دقیقه در هفته چهارم به منظور انتخاب ذرات با قابلیت ته نشینی بهتر انجام شد. ادامه فرایند در زمان ته نشینی ۱ دقیقه ادامه یافت. کاهش زمان ته نشینی به شسته شدن لجن با قدرت ته نشینی پایین کمک کرد و در تشکیل گرانول‌های هوازی مؤثر واقع شد. مطابق شکل ۳-a، در روز ۱۴م گرانول‌های نابالغ (<۰/۵ میلی متر) مشاهده شدند. با گذر زمان گرانول‌ها رشد بیشتری داشته و به ساختار متراکم‌تر و بزرگتر (حداکثر تا ۳ میلی متر) دست یافتند (شکل ۳-b).

$SVI_{30}$  و  $SVI_5$  شاخص‌های حیاتی برای ارزیابی ویژگی‌های گرانول‌های هوازی در تصفیه پساب هستند. به ویژه، نسبت  $SVI_{30}/SVI_5$  به طور گسترده‌ای برای نظارت بر فرایند گرانوله شدن و ارزیابی رفتار رسوب گذاری لجن گرانولی استفاده می‌شود (Silva et al., 2022). به طور کلی، نسبت  $SVI_{30}/SVI_5$  نزدیک به ۱ نشان دهنده رسوب گذاری بهتر و گرانول‌های متراکم تر است. نسبت پایین تر نیز نشان دهنده گرانول‌های ضعیف تر با قدرت



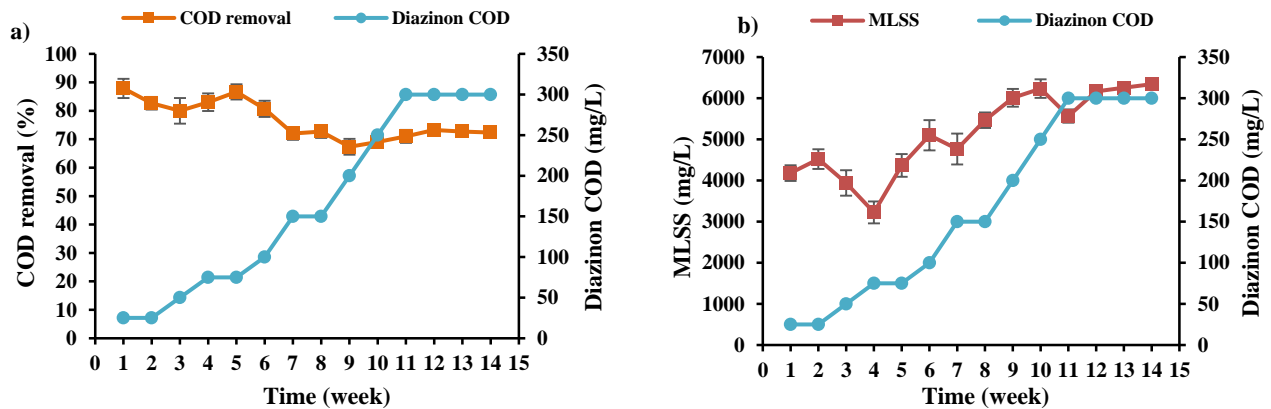


Fig. 2. a) Changes in COD and b) MLSS concentrations in relation to changes in diazinon COD concentration at ambient temperature and  $\text{pH}=7\pm 0.2$

شکل ۲- (a) تغییرات غلظت COD و (b) نسبت به تغییرات غلظت COD دیازینون در دمای محیط و  $\text{pH}=7\pm 0.2$

جدول ۱- مقدار پارامترهای فرایندی در مرحله سازگارسازی

Table 1. Process parameter values in the acclimation phase

Parameter	$\text{PO}_4^{3-}\text{P}$ (mg/L)	$\text{NH}_4\text{-N}$ (mg/L)	COD (mg/L)
Influent	3	15	300
Effluent	$0.8\pm 0.2$	$6\pm 0.56$	$83.01\pm 10$
Removal percentage	$70\pm 0.44$	$60\pm 0.72$	$72.33\pm 2.71$

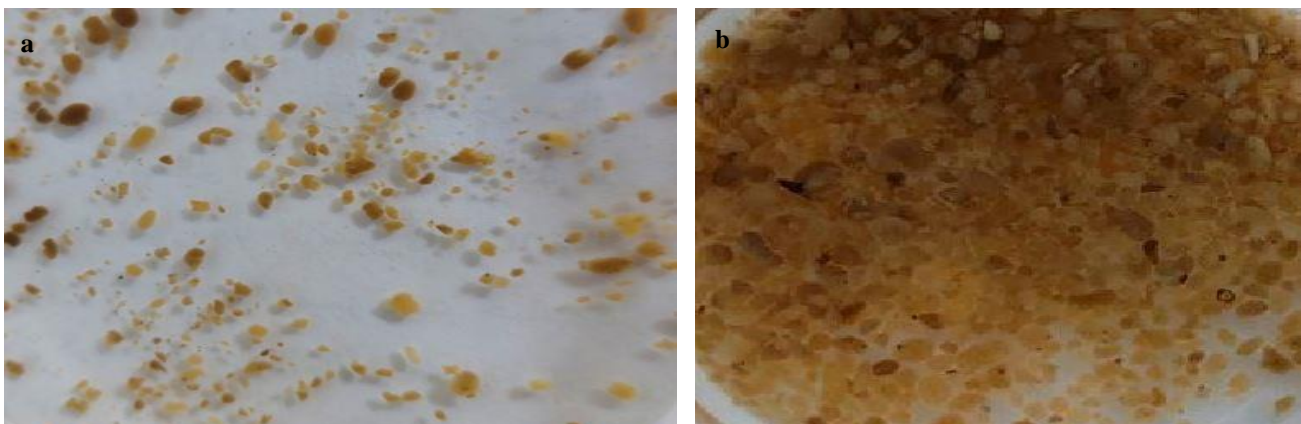


Fig. 3. a) Aerobic granules on day 14, b) Aerobic granules on day 60 of the process at ambient temperature and  $\text{pH}=7\pm 0.2$

شکل ۳- (a) گرانول‌های هوازی روز ۱۴ام، (b) گرانول‌های هوازی روز ۶۰ام فرایند در دمای محیط و  $\text{pH}=7\pm 0.2$

نزدیک ۱ است و نشان‌دهنده تکامل فرایند گرانوله شدن لجن فعال بود.

همچنین، کاهش شدید  $\text{SVI}_{30}$  و  $\text{SVI}_5$  نشان‌دهنده افزایش سرعت ته‌نشینی در طول فرایند گرانوله شدن در مقایسه با لجن فعال بود. کاهش زمان ته‌نشینی، نقش مهمی در تشکیل و نگهداری گرانول‌های مترکم با قدرت ته‌نشینی بالا داشت.

ته‌نشینی کمتر است (Castellanos et al., 2021, Shahriari and Khayati, 2024).

در شکل ۴، پس از گذشت ۶۰ روز از فرایند گرانول‌سازی، کاهش چشمگیری در هر دو  $\text{SVI}_{30}$  و  $\text{SVI}_5$  مشاهده شد که نشان‌دهنده گذار تدریجی از لجن فلوکه به لجن گرانولی بود. مقدار  $\text{SVI}_{30}/\text{SVI}_5$  به‌طور پیوسته افزایش یافت و به  $0.96$  رسید که



### ۴-۳- بررسی میزان حذف دیازینون توسط گرانول‌های هوازی

برای بررسی قابلیت تحمل گرانول‌های هوازی در برابر شوک ناشی از افزودن سم دیازینون، غلظت یک سوم از غلظت نهایی دیازینون در دوره سازگارسازی به همراه گلوکز افزوده شد و به تدریج بر میزان دیازینون اضافه شد تا به مقدار نهایی دوره سازگارسازی برسد. در نهایت، دیازینون به عنوان تنها منبع کربن استفاده شد. با توجه به تغییر HRT و افزایش غلظت دیازینون، اندازه گرانول‌ها اندکی کاهش یافت. تغییر HRT، کاهش نرخ بارگذاری آلی از ۲/۴ به ۰/۸ kg COD/m<sup>3</sup>.d و شوک تغییر منبع کربنی موجب افزایش جزئی ذرات معلق در بیوراکتور شد.

عوامل بیان شده موجب کاهش در مقدار MLSS به دلیل شستشوی لجن و افزایش اندک در مقدار SVI شد. درصد حذف COD توسط گرانول‌های هوازی نسبت به افزایش غلظت دیازینون در شکل ۵ نشان داده شده است. با گذشت دو هفته گرانول‌ها به مقدار پایدار و قابل قبولی در حذف سم دیازینون رسیدند. درصد حذف دیازینون توسط گرانول‌های هوازی به ۹۴/۳۳ درصد رسید. در صورتی که درصد حذف در لجن فعال سازگار برای همین مقدار دیازینون، ۷۲/۳۳ درصد گزارش شد که توانایی بالای گرانول‌های هوازی در برابر حذف مواد آلی را نشان می‌دهد. گرانول‌های هوازی دارای ساختار متراکم و فشرده‌ای هستند که امکان حذف هم‌زمان COD، نیتروژن و فسفر را در یک راکتور فراهم می‌کند. این امر منجر به تجزیه کارآمدتر مواد آلی می‌شود. مطالعات نشان داده است که گرانول‌های هوازی با حذف هم‌زمان مواد مغذی تا ۱۰۰ درصد حذف COD را به دست می‌آورند که نشان دهنده فعالیت میکروبی بسیار مؤثر در داخل گرانول‌ها است (De Kreuk et al., 2005).

(Rafiee et al., 2018)

فرایندهای لجن فعال به علت سمیت دیازینون، کارایی حذف کمتری دارند و دیازینون بدون سوبستراهای کمکی به راحتی تجزیه بیولوژیکی نمی‌شود. همچنین سیستم‌های لجن فعال دارای زیست‌توده کمتر و شرایط نامطلوب‌تری برای حذف هم‌زمان مواد مغذی و آلاینده‌ها هستند (Rajenthiram, 2007). علاوه بر این، EPS یک لایه محافظ در اطراف سلول‌های میکروبی تشکیل می‌دهد و آن‌ها را از ترکیبات سمی مانند آفت‌کش‌ها محافظت می‌کند. این محافظت به جوامع میکروبی درون بیوفیلم‌ها یا

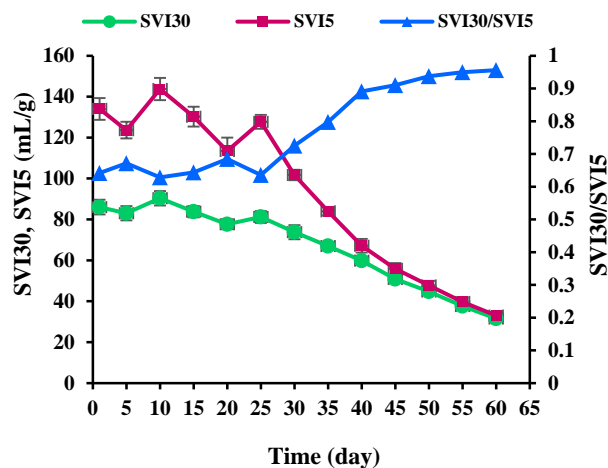


Fig. 4. Values of SVI<sub>30</sub>, SVI<sub>5</sub>, and SVI<sub>30</sub>/SVI<sub>5</sub> in the granulation process in the aerobic bioreactor process at ambient temperature and pH=7±0.2

شکل ۴- مقدار SVI<sub>30</sub>, SVI<sub>5</sub>, SVI<sub>30</sub>/SVI<sub>5</sub> در فرایند گرانول‌سازی در بیوراکتور هوازی در دمای محیط و pH=7±0.2

### ۳-۳- غلظت EPS

EPS ها، موادی هستند که توسط میکروارگانیسم‌ها ترشح می‌شوند و عمدتاً از PS ها و PN ها همراه با سایر ماکرومولکول‌ها از جمله اسید هیومیک و لیپید تشکیل شده‌اند (Ding et al., 2015). به این ترتیب با محاسبه مقدار PS، PN و مجموع مقادیر، مقدار EPS به دست آمد. در فرایند گرانول‌سازی افزایش مقدار EPS مطابق جدول ۲ مشاهده شد. با افزایش فرایند تشکیل گرانول نسبت PN/PS افزایش یافت که نشان دهنده رشد بیشتر مقدار PN نسبت به PS در لجن گرانوله بود.

به دلیل خاصیت آب‌دوستی PS ها، افزایش مقدار PN/PS، روند افزایشی تشکیل گرانول را نشان داد. مطالعات پیشین نشان دادند که نسبت‌های بالاتر PN/PS با پایداری بیشتر گرانول‌ها مرتبط است، چراکه PN های آب‌گریز باعث تجمع میکروبی و استحکام ساختاری می‌شوند.

گرانول‌های پایدار با نسبت‌های PN/PS حدود ۱/۴ تا ۱/۹ نشان‌دهنده افزایش آب‌گریزی و مقاومت زیاد گرانول‌ها هستند (De Sousa Rollemberg et al., 2022, Xu et al., 2025). در این پژوهش، PN/PS برابر ۱/۶۴ نقش غالب PN ها در حفظ ثبات گرانول‌ها و مقدار متعادل PS برای هم‌پوشانی ماتریس EPS را نشان داد.



جدول ۲- محتوای PN، PS، PN/PS و EPS در لجن فعال و گرانول‌های هوازی

Table 2. Content of PN, PS, PN/PS and EPS in activated sludge and aerobic granules

Bioreactor	EPS (mg/g MLSS)	PS (mg/g MLSS)	PN (mg/g MLSS)	PN/PS
Activated sludge	31.23±1.55	16±0.82	15.23±0.45	0.95
Aerobic granules	61.46±2.34	23.23±0.95	38.23±1.2	1.64

آلاینده از پساب‌ها است. در فرایند سازگار سازی که به مدت ۱۴ هفته انجام شد، درصد حذف COD به ۷۲/۳۳ رسید. تشکیل گرانول‌های هوازی در راکتور SBR با چرخه ۶ ساعته طی ۶۰ روز منجر به تولید گرانول‌های قهوه‌ای حداکثر تا ۳ میلی‌متر و نسبت  $SVI_{30}/SVI_5$  برابر ۰/۹۶ شد که نشان‌دهنده سرعت ته‌نشینی مطلوب و ساختار متراکم بود.

با بررسی‌های انجام شده درصد حذف COD در گرانول‌های هوازی به ۹۴/۳۳ درصد رسید که در مقایسه با لجن فعال سازگار شده (۷۲/۳۳ درصد) افزایش چشمگیری را نشان داد. در نتیجه، گرانول‌های هوازی توانایی بالایی در تجزیه زیستی دیازینون نشان دادند. نسبت PN/PS برابر ۱/۶۴ در گرانول‌های هوازی تشکیل شده، نشان‌دهنده انسجام ساختاری مناسب بود. حفظ پایداری گرانول‌های هوازی در برابر شوک‌های ناشی از دیازینون با استفاده از جایگزینی تدریجی منابع کربن نیز از دیگر دستاوردهای این پژوهش بود. از طرفی، کمبود شرایط آزمایشگاهی و دستگاه‌های آنالیز، حفظ شرایط عملیاتی (دمای محیط و pH برابر ۷±۰/۲) از جمله محدودیت‌های پژوهش بود. ارزیابی تأثیر نوسانات دما و pH بر پایداری گرانول‌ها، شناسایی جامعه میکروبی، مسیرهای تجزیه دیازینون و بهینه‌سازی پارامترهای عملیاتی راکتور برای کاهش زمان تشکیل گرانول‌ها از پیشنهادها برای این پژوهش برای پژوهش‌های آینده است.

#### ۵- قدردانی

نویسندگان این پژوهش، از آزمایشگاه فوق تخصصی آب و فاضلاب دانشگاه گیلان برای تهیه و تدارک امکانات و تجهیزات آزمایشگاهی تشکر می‌کنند.

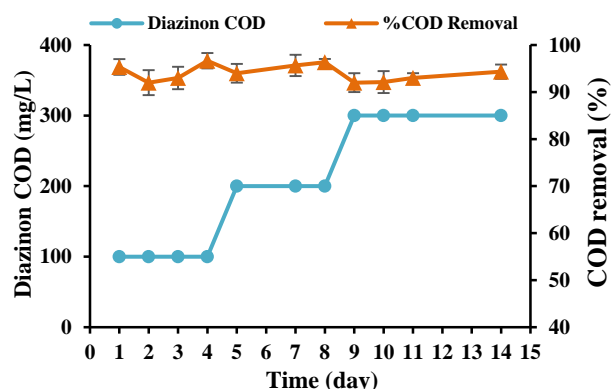


Fig. 5. Percentage of COD removal by aerobic granules at ambient temperature and pH=7±0.2

شکل ۵- درصد حذف COD توسط گرانول‌های هوازی در دمای محیط و pH=7±۰/۲

گرانول‌های هوازی اجازه می‌دهد تا علی‌رغم وجود آفت‌کش‌های سمی، زنده بمانند و فعالیت زیستی خود را حفظ کنند. ترکیب EPS در پاسخ به استرس سمی، با افزایش PN/PS باعث افزایش آب‌گریزی و ظرفیت اتصال برای آلاینده‌های آلی می‌شود (Melo et al., 2022). این پاسخ تطبیقی به میکرووب‌ها کمک می‌کند تا ترکیباتی مانند دیازینون را بهتر جذب و تجزیه کنند. بنابراین، درصد حذف COD بالاتر در راکتورهای دارای گرانول‌های هوازی عمدتاً به دلیل مزایای ساختاری گرانول‌ها، تنوع میکروبی و قابلیت‌های تجزیه بیولوژیکی بیشتر برای ترکیبات سمی مانند دیازینون در مقایسه با سیستم‌های لجن فعال است.

#### ۴- نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که تشکیل گرانول‌های هوازی حاصل از لجن فعال سازگار شده با دیازینون، راهکاری مؤثر برای حذف این





## References

- Abdi, D. E., Tabares, M., Redekar, N., Parke, J., Reguera, G. and Fernandez, R. T., 2025. Control of microbiome composition and agrichemical remediation in woodchip bioreactors by hydraulic retention time. *ACS ES&T Water*, 5, 1730-1744. <https://doi.org/10.1021/acsestwater.4c01114>.
- Al-Farttoosy, A. H., 2021. Adsorption-desorption, and kinetic study of diazinon by batch equilibrium. *Natural Volatiles and Essential Oils*, 8(6), 4933-4939. [Link].
- American Public Health Association (APHA, 2005), A. W. W. A., Water Pollution Control Federation and Water Environment Federation 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, Washington, DC.
- Bailey, H. C., Deanovic, L., Reyes, E., Kimball, T., Larson, K., Cortright, K., et al. 2000. Diazinon and chlorpyrifos in urban waterways in Northern California, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19, 82-87. <https://doi.org/10.1002/etc.5620190109>.
- Castellanos, R. M., Dias, J. M. R., Dias Bassin, I., Dezotti, M. and Bassin, J. P., 2021. Effect of sludge age on aerobic granular sludge: addressing nutrient removal performance and biomass stability. *Process Safety and Environmental Protection*, 149, 212-222. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.10.042>.
- Chen, R., Guo, W., Li, L., Wang, H., Wang, B., Hu, X. et al., 2024. Aerobic granulation in a continuous-flow simultaneous nitrification, endogenous denitrification, and phosphorus removal system fed with low-strength wastewater: granulation mechanism and microbial succession. *Chemical Engineering Journal*, 487, 150598. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.150598>.
- Colovic, M., Krstic, D., Petrovic, S., Leskovac, A., Joksic, G., Savic, J. et al., 2010. Toxic effects of diazinon and its photodegradation products. *Toxicol Lett*, 193, 9-18. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.11.022>.
- Cycon, M., Zmijowska, A., Wojcik, M. and Piotrowska-Seget, Z., 2013. Biodegradation and bioremediation potential of diazinon-degrading *Serratia marcescens* to remove other organophosphorus pesticides from soils. *Journal of Environmental Management*, 117, 7-16. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.12.031>.
- Dargahi, A., Ansari, A., Nematollahi, D., Asgari, G., Shokoohi, R. and Samarghandi, M. R., 2019. Parameter optimization and degradation mechanism for electrocatalytic degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) herbicide by lead dioxide electrodes. *RSC Advances*, 9, 5064-5075. <https://doi.org/10.1039/c8ra10105a>.
- De Kreuk, M. K., Heijnen, J. J. and Van Loosdrecht, M. C., 2005. Simultaneous COD, nitrogen and phosphate removal by aerobic granular sludge. *Biotechnol Bioeng*, 90, 761-9. <https://doi.org/10.1002/bit.20470>.
- De Sousa Rollemberg, S. L., Nascimento De Barros, A., Milen Firmino, P. I. and Bezerra Dos Santos, A., 2022. Evaluation of sludge discharge methodologies in aerobic granular sludge reactors. *Bioresource Technology Reports*, 18, 101018. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101018>.
- Desireddy, S., Madhavan, S. and Sabumon, P. C., 2022. Development and long-term operation of aerobic granular system for simultaneous removal of COD, nitrogen and phosphorous in a conical SBR. *Environmental Engineering Research*, 28, 220015. <https://doi.org/10.4491/eer.2022.015>.
- Ding, Z., Bourven, I., Guibaud, G., Van Hullebusch, E. D., Panico, A., Pirozzi, F. et al., 2015. Role of extracellular polymeric substances (EPS) production in bioaggregation: application to wastewater treatment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99, 9883-905. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6964-8>.
- Drufovka, K., Danevčič, T., Trebše, P. and Stopar, D., 2008. Microorganisms trigger chemical degradation of diazinon. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 62, 293-296. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2008.02.003>.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F., 2002. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28, 350-356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>.



- Felz, S., Al-Zuhairy, S., Aarstad, O. A., Van Loosdrecht, M. C. and Lin, Y. M., 2016. Extraction of structural extracellular polymeric substances from aerobic granular sludge. *Journal of Visualized Experiments*, 115, 54534. <https://doi.org/10.3791/54534>.
- Guo, Y., Zhang, B., Feng, S., Wang, D., Li, J. and Shi, W., 2022. Unveiling significance of  $\text{Ca}^{2+}$  ion for start-up of aerobic granular sludge reactor by distinguishing its effects on physicochemical property and bioactivity of sludge. *Environmental Research*, 212, 113299. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113299>.
- Hamiruddin, N. A., Awang, N. A., Mohd Shahpudin, S. N., Zaidi, N. S., Said, M. A. M., Chaplot, B. et al., 2021. Effects of wastewater type on stability and operating conditions control strategy in relation to the formation of aerobic granular sludge - a review. *Water Science and Technology*, 84, 2113-2130. <https://doi.org/10.2166/wst.2021.415>.
- Kabwadza-Corner, P., Matsue, N., Johan, E. and Henmi, T., 2014. Mechanism of diazinon adsorption on iron modified montmorillonite. *American Journal of Analytical Chemistry*, 5, 70-76. <https://doi.org/10.4236/ajac.2014.52011>.
- Kang, H., Jiao, Y., Wang, F., Liu, W., Liu, X., Ai, S. et al., 2024. Study on correlation between impact-resistance performance and microbial characteristics by MPSR and SBR under transient organic load shock. *Journal of Environmental Engineering*, 150, 04024036. <https://doi.org/10.1061/JOEEDU.EEENG-7566>.
- Kielkopf, C. L., Bauer, W. and Urbatsch, I. L., 2020. Bradford assay for determining protein concentration. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2020, pdb. prot102269. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot102269>.
- Li, W., Liu, Y., Duan, J., Van Leeuwen, J. and Saint, C. P., 2015. UV and  $\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$  treatment of diazinon and its influence on disinfection byproduct formation following chlorination. *Chemical Engineering Journal*, 274, 39-49. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.03.130>.
- Liu, L., Gao, D. W., Zhang, M. and Fu, Y., 2010. Comparison of  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mg}^{2+}$  enhancing aerobic granulation in SBR. *Journal of Hazardous Materials*, 181, 382-387. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.05.021>.
- Melo, A., Quintelas, C., Ferreira, E. C. and Mesquita, D. P., 2022. The role of extracellular polymeric substances in micropollutant removal. *Frontiers in Chemical Engineering*, 4, 778469. <https://doi.org/10.3389/fceng.2022.778469>.
- Pirsaheb, M., Dargahi, A., Hazrati, S. and Fazlzadehdavil, M., 2014. Removal of diazinon and 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) from aqueous solutions by granular-activated carbon. *Desalination and Water Treatment*, 52, 4350-4355. <https://doi.org/10.1080/19443994.2013.801787>.
- Rafiee, M., Razmi, E., Mohebbi, S. and Jahangiri-Rad, M., 2018. Development of aerobic granular sludge for chemical industries wastewater treatment. *Health Scope*, 7, 1-8. <http://dx.doi.org/10.5812/jhealthscope.12443>.
- Rajenthiram, D., 2007. Modeling of diazinon degradation in an ASM using MS Excel, Oklahoma State University. [\[Link\]](#).
- Samarghandi, M. R., Nemattollahi, D., Asgari, G., Shokoohi, R., Ansari, A. and Dargahi, A., 2019. Electrochemical process for 2, 4-D herbicide removal from aqueous solutions using stainless steel 316 and graphite anodes: optimization using response surface methodology. *Separation Science and Technology*, 54, 478-493. <https://doi.org/10.1080/01496395.2018.1512618>.
- Shahriari, M. and Khayati, G., 2024. Biodegradation of nicotine using aerobic granules in sequence batch reactor. *Journal of Water and Wastewater*, 35(2), 40-52. (In Persian). <https://doi.org/10.22093/wwj.2024.445899.3403>.
- Silva, S. A., Del Río, A. V., Amaral, A. L., Ferreira, E. C., Alves, M. M. and Mesquita, D. P., 2022. Monitoring morphological changes from activated sludge to aerobic granular sludge under distinct organic loading rates and increasing minimal imposed sludge settling velocities through quantitative image analysis. *Chemosphere*, 286, 131637. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131637>.



- Toolabi, A., Malakootian, M., Ghaneian, M. T., Esrafil, A., Ehrampoush, M. H., Askarshahi, M. et al., 2018. Modeling photocatalytic degradation of diazinon from aqueous solutions and effluent toxicity risk assessment using *Escherichia coli* LMG 15862. *AMB Express*, 8, 1-13. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0589-0>.
- Truong, H. T. B. and Bui, H. M., 2023. Potential of aerobic granular sludge membrane bioreactor (AGMBR) in wastewater treatment. *Bioengineered*, 14, 2260139. <https://doi.org/10.1080/21655979.2023.2260139>.
- Truong Thi Bich, H., 2023. Review of aerobic granular sludge technology and application in wastewater treatment. *Journal of Science and Technology*, 64. <https://doi.org/10.46242/jstiuh.v64i04.4885>.
- Wang, G., Li, X., Zheng, J., Li, X., Bai, L., Yue, W. et al., 2022. Isolation of a diazinon-degrading strain *Sphingobium* sp. DI-6 and its novel biodegradation pathway. *Front Microbiol*, 13, 929147. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.929147>.
- Wu, X., Li, J., Zhou, Z., Lin, Z., Pang, S., Bhatt, P. et al., 2021. Environmental occurrence, toxicity concerns, and degradation of diazinon using a microbial system. *Front Microbiol*, 12, 717286. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.717286>.
- Xu, D., Wu, S., Li, Z., Wu, S., Xu, J. and Gu, C., 2025. Aerobic granular sludge treating tannery wastewater and particle size control. *AIP Advances*, 15, 025128. <https://doi.org/10.1063/5.0255163>.
- Xu, J., Zhu, L., Bai, Z., Liang, G., Liu, L., Fang, D. et al., 2013. Conductive polypyrrole-bacterial cellulose nanocomposite membranes as flexible supercapacitor electrode. *Organic Electronics*, 14, 3331-3338. <https://doi.org/10.1016/j.orgel.2013.09.042>.

