حذف نیترات از آب با استفاده از کنسرسیوم باکتری‌های دنیتریفایر تثبیت شده بر روی کربن فعال در یک راکتور بستر شناور

حاتم گودینی[1]، عباس رضایی[2]، فاطمه بیرانوند[1]، ناهید جهانبانی[1]
۱- گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران
۲- گروه بهداشت محیط، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

یافته / دوره چهاردهم / شماره ۲ / تابستان ۹۱ / مسلسل ۵۲

چکیده

دریافت مقاله: ۹۰/۹/۳۰ ، پذیرش مقاله: ۹۱/۲/۲۳

✱ **مقدمه:** یون‌های حاوی نیتروژن نظیر نیترات در برخی منابع آب در غلظت‌های بالا موجود می‌باشد. این آلاینده باعث ایجاد مشکلات بهداشتی مثل سندرم بچه آبی در نوزادان و احتمال تشکیل ترکیبات سرطان زا در آب و ایجاد سرطان دستگاه گوارش می‌شود لذا حذف آنها از منابع آب ضرورت دارد. دنیتریفیکاسیون بیولوژیکی یکی از روش‌های مؤثر در حذف نیترات می‌باشد که در این راستا می‌توان از راکتورهای بستر شناور استفاده نمود. هدف از این مطالعه ارزیابی راکتور بستر شناور با بستر کربن فعال در حذف نیترات از آب می‌باشد.

✱ **مواد و روش‌ها:** باکتری‌های دنیتریفایر جداسازی شده از فاضلاب کارخانه شیر خرم‌آباد بر روی کربن فعال گرانولی تثبیت شده و از آن به عنوان بستر در راکتور بستر شناور برای حذف نیترات استفاده شد. وضعیت تثبیت با تهیه تصویر میکروسکوپ الکترونی مورد بررسی قرار گرفت. حذف غلظت ۲۰۰-۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات از آب با زمان ماند ۳-۱ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت. این مطالعه تحت شرایط آنوکسیک انجام شد. همچنین اثرات شرایط بهره برداری نظیر زمان ماند هیدرولیکی، **pH**، غلظت اولیه نیترات، بار ورودی و نوع منبع کربن نیز مورد بررسی قرار گرفت.

✱ **یافته‌ها:** نتایج آزمایشات نشان داد که بیش از ۹۴ درصد نیترات با زمان ماند ۳-۲ ساعت (غلظت نیترات ورودی ۲۰۰-۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) حذف شده و با این راندمان تجمع نیتریت و آمونیاک وجود نداشت و غلظت نیترات، نیتریت و آمونیاک در آب خروجی در غلظت‌های ورودی ۱۰۰-۵۰ میلی‌گرم بر لیتر در حد استاندارد آب آشامیدنی بود. تا میزان بار ورودی $kgNO_3\text{-}N\cdot m^{-3}$ ۲/۴ $\cdot day^{-1}$ کیفیت آب آشامیدنی برای نیترات موجود در آب تصفیه شده فراهم شد. همچنین حداکثر نرخ دنیتریفیکاسیون ($۳/۴۵ kgNO_3\text{-}N\cdot m^{-3}\cdot day^{-1}$) برای میزان بار ورودی $۴/۸ kgNO_3\text{-}N\cdot m^{-3}\cdot day^{-1}$ ایجاد گردید.

✱ **بحث و نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان داد که کربن فعال گرانولی می‌تواند سایت مطلوبی را برای چسبیدن باکتری‌های دنیتریفایر تأمین نموده و به عنوان بستر، دنیتریفیکاسیون آب را در راکتور بستر شناور به خوبی انجام دهد.

✱ **واژه‌های کلیدی:** آب، دنیتریفیکاسیون، شرایط آنوکسیک، راکتور بستر شناور، نیترات.

آدرس مکاتبه: خرم آباد، گلدشت، دانشکده بهداشت و تغذیه، گروه بهداشت محیط
پست الکترونیک: godini_h@yahoo.com

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-03-28]

مقدمه

نیتروژن یکی از آلاینده‌های آب و فاضلاب است که بـه اشـکال نیتروژن آلی و غیرآلی می‌تواند وجود داشته باشـد. پایـدارترین حالـت نیتروژن در آب و فاضلاب نیترات مـی‌باشـد. نیتـرات دارای بـالاترین درجه اکسیداسیون در گردش طبیعی ازت مـی‌باشـد. ایـن ترکیبـات حاصل اکسیداسیون مواد آلی، تحت تأثیر باکتری‌ها می‌باشند. نیترات و نیتریت به عنوان یک شاخص شیمیایی مهـم در آب دارای اهمیـت هستند.

استاندارد ایران حداکثر مجـاز نیتـرات در آب آشـامیدنی را ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بر حسب نیتروژن تعیین نموده است (۱). راهنمـای سـازمان بهداشـت جهـانی، میـزان نیتـرات در آب آشـامیدنی را ۱۱ میلی‌گرم در لیتر بر حسب نیتروژن تعیین نمـوده اسـت (۲). غلظـت بالای نیترات در منابع آب آشامیدنی باعث به مخاطره انداختن سلامت کودکان، زنان باردار و جنین در حال رشد و افراد بالغی کـه اسـیدیته معده آنها پایین است و برخی افرادی که نقایص آنزیمی دارند می‌شود. مطالعاتی که اخیراً بر روی اثرات نیترات بر سـلامتی انـسان و حیـوان انجام شده است، اثر نیترات بر فعالیت غده تیروئید حیوانـات را نـشان داده است (۷-۳). مت هموگلوبینمی یا سندرم بچه آبی در اثر مصرف آب حاوی نیترات و نیتریت توسط کودکان ایجاد می‌گـردد (۷-۲). در این خصوص کودکان زیر یک سال بیشتر در معرض خطر مـی‌باشـند که دلیل این امر پایین بودن pH معده، وجود باکتری‌های احیاء کننده و بالا بودن مصرف مایعات نسبت به وزن آنها می‌باشـد. نیتـرات غالبـاً سلامت چهارپایان اهلی و دیگـر حیوانـات را بـه مخـاطره مـی‌انـدازد. حیوانات نیز می‌توانند به مت هموگلوبینمی مبتلا گردند که برای آنهـا نیز کشنده است. گاوهـا غالبـاً بـه مـسمومیت مـزمن نیتـرات مبـتلا می‌شوند که باعث کاهش تولید شیر، کاهش وزن و سـقط جنـین در حیوان می‌شود (۸). سرطانزایی منابع آب آلـوده بـه نیتـروزآمین‌هـا و نیتروزآمیدها در انسان و حیوانات اثبات شده است (۹). برخی مطالعات شکسته شدن کروموزوم‌ها در غلظت‌های بالای نیتـرات را نـشان داده است (۵-۳).

نیتروژن یکی از مواد مغذی لازم برای رشد جلبک‌ها مـی‌باشـد. افزایش غلظـت نیتـرات در منـابع آب باعـث افـزایش رشـد جلبکـی می‌گردد که رشد بیش از حد جلبک‌ها پس از مـصرف مـواد مغـذی متوقف شده و سپس جلبک‌ها شروع به تجزیه شدن می‌نماینـد. ایـن امر باعث مصرف اکسیژن منابع آب سطحی می‌گردد که این عمل یک پدیـده نامناسـب بـرای آب‌هـای سـطحی مـی باشـد کـه بـه آن اتروفیکاسـیون[1] مـی‌گوینـد. منـابع نیتـرات در آب منـشاء طبیعـی و مصنوعی (وارد شدن پساب‌ها و فاضلاب) دارد. منابع نیترات در آبهای زیرزمینی عبارتند از: استفاده از کودهـای شـیمیایی، صـنایع رزیـن و پلاستیک، تجهیزات الکتریکی و الکترونیکی، صنایع زغال، صنایع نفت، صنایع کاغذ، صنایع پردازش مواد غذایی و دفع مـواد زائـد انـسانی و حیوانی، صنایع پتروشیمی، مواد منفجره، پکتین و برخی صنایع فلزی (۷،۱۰).

با توجه به اثرات نیترات بر سلامتی انسان حذف آن از آب بسیار حائز اهمیت می‌باشد. تکنولوژی‌هایی که هم اکنون برای حذف نیترات از آب استفاده می‌گردد به دو دسته تقسیم می‌شوند (۷،۱۱) :

۱- روش‌های شیمیایی و فیزیکی شامل استفاده از فلزات احیـاء کننده، استفاده از آنزیم‌ها، مبادله کننده‌هـای یـونی، اسـمز معکـوس، الکترودیالیز و جذب سطحی

۲- روش‌های بیولوژیکی شامل سیستم‌هـای رشـد چـسبیده و رشد معلق

اسـتفاده از روش‌هـای فیزیکـی و شـیمیایی دارای مـشکلات متعـددی در حـذف نیتـرات از آب مـی‌باشـد (۷). بـا ایـن وجـود دنیتریفیکاسیون بیولوژیکی در مقایسه با روش‌های فیزیکی و شیمیایی عملی‌تر و اقتصادی‌تر می‌باشد و در سال‌های اخیر برای تصفیه آب‌های آشامیدنی توسعه پیدا کـرده اسـت. اغلـب ایـن سیـستم‌هـا بوسـیله

1. Utrification

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-03-28]

باکتریهای هتروتروفیک انجام می‌شود که نیاز به منبع کربن (متانول و استات و .....) دارند. مزیت این سیستم‌ها عملکرد خوب میکروارگانیسم‌های دنیتریفایر برای حذف نیترات، هزینه پایین و سرعت بالای دنیتریفیکاسیون می‌باشد (۷).

دنیتریفیکاسیون بیولوژیکی با سیستم‌های رشد چسبیده نتایج مطلوب‌تری را در مقایسه با رشد معلق برای دنیتریفیکاسیون نشان داده است. فرآیندهای رشد چسبیده شامل راکتورهای بستر فشرده[1]، راکتورهای بستر شناور[2] و تماس دهنده های بیولوژیکی دوار مستغرق می‌باشد. راکتورهای بستر شناور به صورت جریان رو به بالا بهره برداری می‌گردند و بستر مورد استفاده در رشد چسبیده بصورت مستغرق می‌باشد. برخی مطالعات نشان داده است که استفاده از این سیستم در مقایسه با دیگر سیستم‌های رشد چسبیده دارای سطح تماس بیشتری است زیرا از دانه‌های ریز استفاده می‌گردد (۱۰). بسترهای رشد چسبیده‌ای که تا کنون در حالات میدانی، پایلوت و آزمایشگاهی برای دنیتریفیکاسیون به کار گرفته شده است شامل شن و ماسه، پلی وینیل کلراید، پلی یورتان و سنگ آهک می‌باشد (۱۲). خواص چسبندگی میکروارگانیسم‌ها به هر یک از بسترهای فوق متفاوت است. امروزه یکی از ایده‌های قابل توجه در زمینه دنیتریفیکاسیون استفاده از یک ماده مناسب با سطح تماس بالا به عنوان بستر می‌باشد (۱۳،۱۴).

تا به حال از مواد مختلفی به عنوان بستر در فرآیندهای بیولوژیکی دنیتیریفیکاسیون استفاده شده است (۱۵). به عنوان مثال در مطالعه‌ای که توسط ترکمان و اسلان سال ۲۰۰۵ انجام شده نقش کاه به عنوان بستر و منبع کربن در حذف نیترات و آفت کش‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته است (۱۳). در این مطالعه مشخص شده است که استفاده از کاه می‌تواند نقش مؤثری در حذف آفت‌کش‌های موجود در پساب داشته باشد و یک بستر مناسب برای رشد چسبیده در دنیتریفیکاسیون بیولوژیکی فراهم نماید ولی یک سری مشکلات نیز در استفاده از این ماده وجود دارد. یکی از مزایای کربن فعال سطح نسبتاً بالا نسبت به حجم و وجود خلل و فرج بالا می‌باشد که این امر تثبیت بهتر باکتری‌ها را ممکن و در نهایت انتظار می‌رود فعالیت دنیتریفیکاسیون دارای سرعت بالاتری باشد. با توجه به خصوصیاتی که کربن فعال دارد، به نظر می‌رسد که کربن فعال بتواند یک بستر مناسب برای تثبیت باکتری‌های دنیتریفایر و استفاده از آن در دنیتریفیکاسیون بیولوژیکی با سیستم راکتوری بستر شناور باشد.

بررسی منابع موجود نشان می‌دهد که مطالعه‌ای در زمینه استفاده از کربن فعال به عنوان بستر میکروبی برای فرآیند دنیتریفیکاسیون در سیستم راکتوری بستر شناور انجام نشده است. از طرف دیگر مطالعات انجام شده بر روی کربن فعال نشان داده است که این ماده، جاذب بسیار مناسبی است و لذا ممکن است این خاصیت کربن فعال، چسبیدن باکتری‌ها به بستر را تسریع نماید و در نهایت منجر به دنیتریفیکاسیون مطلوب‌تری گردد. بنابراین در این مطالعه عملکرد راکتور بستر شناور با مواد بستری کربن فعال که باکتری‌های دنیتریفایر بر روی آن تثبیت شده است مورد ارزیابی قرار گرفت تا در صورت مناسب بودن برای تصفیه آب آشامیدنی پیشنهاد گردد.

هدف اصلی این طرح تعیین دنیتریفیکاسیون بیولوژیکی آب با استفاده از کنسرسیوم باکتری‌های دنیتریفایر تثبیت شده بر روی کربن فعال در یک راکتور بستر شناور بود.

مواد و روش‌ها

از پساب و لجن تصفیه فاضلاب کارخانه شیر خرم آباد نمونه‌هایی گرفته شد. نمونه‌های تهیه شده پس از انتقال به آزمایشگاه (دمای ۴ درجه سانتیگراد) مورد بررسی های اولیه و کشت قرار گرفت. مقدار ۲ سی سی از پساب و یا مقدار ۰/۱ گرم لجن در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت اختصاصی وارد گردید (۱۶،۱۷). محیط‌های کشت تلقیح شده در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد به مدت یک هفته انکوبه شدند. نمونه‌های رشد کرده به صورت رقت‌های سریال در محیط

1.Packed-bed
2.Fluidized-bed

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-03-28]

کشت آگاردار تلقیح گردید و مجدداً در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند تا کلنی‌های قابل رویت تشکیل شوند. کلنی‌های رشد کرده بعد از کشت مجدد جداسازی شده و جهت انجام مطالعات بعدی ذخیره گردیدند.

قدرت دنیتریفیکاسیون باکتری‌های جداسازی شده، اثرات pH و نقش نوع منبع کربن (اتانول و اسید استیک) در مطالعات جداگانه مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند (۱۸،۱۹). این بخش در ویال‌های ۱۲۰ میلی‌لیتری انجام شده که در داخل این ویال‌ها، ۵۰ میلی لیتر محلول حاوی نیترات ریخته شده بود. برای تعیین قدرت دنیتریفیکاسیون و عوامل مؤثر در آن، به محیط مایع حاوی غلظت ثابت و معین از نیترات (۲۰۰ میلی گرم بر لیتر) گونه‌های جدا شده در مرحله بالا تلقیح گردید. میزان تلقیح به اندازه معادل یک لوله مک فارلند یعنی 3×10^8 CFU/mL بود. پس از تلقیح باکتری به محیط (۵۰ میلی لیتر)، محیط‌ها بر روی شیکر در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد گذاشته شده و در زمان‌های مختلف غلظت نیترات و نیتریت اندازه‌گیری گردید.

مشخصات کربن فعال گرانولی مورد استفاده به عنوان بستر در راکتور بستر شناور در جدول ۱ نشان داده شده است. کربن فعال مورد استفاده در این مطالعه دارای سطح ویژه ۶۵۹ متر مربع بر گرم بود.

جدول ۱- مشخصات فیزیکی-شیمیایی بستر کربن فعال مورد استفاده

پارمترها	واحد	مقدار
دانسیته	g/cm^3	۰/۲۵۸
میانگین قطر خلل و فرج	nm	۷۶
تخلخل کل	%	۱۵/۷۵
میزان رطوبت	%	۳/۷
pH	-	۷/۱۲
میزان سطح به وزن (سطح ویژه)	m^2/g	۶۵۹
قطر گرانول	mm	کمتر از ۲

برای تثبیت باکتری دنیتریفایر بر روی کربن فعال گرانولی از روش چرخش بسته سوسپانسیون میکروبی بر روی بستر استفاده شد. در این روش از سوسپانسیون میکروبی با غلظت 3×10^8 CFU/mL استفاده گردید. مدت تماس سوسپانسیون میکروبی با بستر بین ۳ تا ۵ روز بود (۱۹-۱۶). به منظور بررسی وضعیت تثبیت باکتری‌ها بر روی بستر کربن فعال از کربن فعال قبل و بعد از تثبیت، تصویر الکترونی (با استفاده از میکروسکوپ الکترونی SEM، شرکت فیلیپس از کشور هلند، مدل XL30) تهیه و مورد بررسی قرار گرفت (۲۰).

به منظور تعیین میزان توده سلولی موجود بر روی بستر پس از تثبیت و در طی عمل دنیتریفیکاسیون از روش تعیین غلظت پروتئین استفاده شد. برای اندازه گیری پروتئین باکتری‌ها از روش استفاده شده توسط برادفورد به عنوان یک روش استاندارد و حساس استفاده گردید (۱۸،۲۱،۲۲). میانگین وزن سلولی نمونه های جدا شده به صورت وزن سلول‌های خشک با فرض این که به ازای هر ۰/۵ گرم پروتئین معادل یک گرم وزن خشک است انجام شد (۲۳).

با توجه به این ایده که جذب نیترات توسط کربن فعال ممکن است باعث کاهش میزان نیترات خروجی شود، جذب نیترات توسط کربن فعال در pH های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. برای انجام مطالعه مربوط به این بخش محیط حاوی ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر نیترات- نیتروژن تهیه و پس از توزیع در ویال‌های ۱۲۰ میلی‌لیتری (۵۰ میلی‌لیتر در هر ویال) به میزان ۳۰ گرم کربن فعال در هر ویال ریخته شد و سپس استریل گردید. پس از استریل، ویال‌ها بر روی شیکر ۱۲۰ دور در دقیقه قرار داده شد و در زمان‌های مختلف میزان نیترات و نیتریت آن اندازه‌گیری گردید.

راکتوری شامل یک ستون از جنس پلکسی گلاس در مقیاس آزمایشگاهی ساخته شد و برای آن، ورودی و خروجی جداگانه در نظر گرفته شد. ارتفاع این راکتور ۶۰ سانتی‌متر بود که ۴۰ سانتی‌متر آن با مواد بستر پوشانده شده بود. قطر داخلی راکتور ۶ سانتی‌متر و حجم خالی راکتور ۱/۷ لیتر بود. در داخل این

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-03-28]

ستون کربن فعال تثبیت شده با باکتری‌های دنیتریفایر ریخته شد (راکتور شماره ۱). در کنار این راکتور نیز راکتور دیگری که همه شرایط بالا را داشت و فقط تثبیت باکتری دنیتریفایر بر سطح کربن فعال انجام نگرفته بود به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت (راکتور شماره ۲). شکل دو راکتور کاملاً مشابه بود.

آب مورد استفاده در این مطالعه آب شهری بود که غلظت‌های اولیه نیترات در آن با استفاده از نیترات سدیم در محدوده ۲۰۰-۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تنظیم شد و از KH_2PO_4 ، K_2HPO_4 به ترتیب به مقادیر ۹۳ و ۱۸ میلی‌گرم در لیتر به عنوان بافر برای تأمین p = ۷/۲ اضافه گردید. به منظور تأمین منبع کربن از اتانول و اسید استیک استفاده شد.

به منظور راه اندازی راکتور، شرایط برای زمان ماند ۳ ساعت، غلظت نیترات ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، دما ۲۷ درجه سانتیگراد و نسبت کربن به نیتروژن ۳ تأمین شد و تا زمانی که غلظت خروجی از راکتورها به میزان ثابت رسید بهره برداری به صورت مداوم انجام گرفت.

پس از رسیدن به حالت پایداری، اثر پارامترهای موثر در دنیتریفیکاسیون نظیر زمان ماند (۱ تا ۳ ساعت)، غلظت نیترات (۵۰ تا ۲۰۰ میلی گرم در لیتر) و بار نیترات ورودی به سیستم مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی هر یک از متغیرهای فوق بقیه پارامترها ثابت در نظر گرفته شد. با تغییر هر یک از پارامترهای فوق راندمان سیستم و سرعت فرآیند تعیین شده و مشکلات حین بهره‌برداری مورد بررسی و آنالیز قرار گرفتند. نمونه‌گیری از راکتور به صورت روزانه و به صورت سه تایی و به صورت تصادفی[1] گرفته شد و روش نمونه‌گیری بر اساس کتاب رفرانس استاندارد متد ۲۰۰۵ طراحی شد (۲۴). مراحل و نوبت‌های کاری راکتورهای مورد استفاده در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- مراحل و نوبت‌های کاری پایلوت‌های مورد استفاده

مرحله عملیاتی / نوبت کاری پایلوت	مرحله ۱ (زمان ماند ۳ ساعت)		مرحله ۲ (زمان ماند ۲ ساعت)		مرحله ۳ (زمان ماند ۱ ساعت)	
	غلظت نیترات ورودی (mg/l)	میزان بارگذاری نیترات kg N/m³.d	غلظت نیترات ورودی (mg/l)	میزان بارگذاری نیترات kg N/m³.d	غلظت نیترات ورودی (mg/l)	میزان بارگذاری نیترات kg N/m³.d
RUN 1	۵۰	۰/۴	۵۰	۰/۶	۵۰	۱/۲
RUN 2	۱۰۰	۰/۸	۱۰۰	۱/۲	۱۰۰	۲/۴
RUN 3	۱۵۰	۱/۲	۱۵۰	۱/۸	۱۵۰	۳/۶
RUN 4	۲۰۰	۱/۶	۲۰۰	۲/۴	۲۰۰	۴/۸

برای توصیف و تحلیل اطلاعات در شرایط بهره‌برداری متفاوت، نمونه‌هایی گرفته و غلظت‌های نیترات، نیتریت، آمونیاک، قلیائیت، pH، COD، کدورت و غیره اندازه‌گیری شد و میانگین‌های مربوط به شرایط مختلف بهره‌برداری راکتور با در نظر گرفتن انحراف معیار مربوطه مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفت. به منظور بررسی و کنترل فرآیند دنیتریفیکاسیون مقادیر نیترات، نیتریت، آمونیاک، قلیائیت، pH، COD، درجه حرارت و دبی جریان به صورت روزانه مورد پایش قرار گرفت.

برای اندازه‌گیری نیترات از روش اسپکتروفتومتری UV (دستورالعمل4500-NO3 C)، برای اندازه گیری نیتریت از روش رنگ سنجی (دستورالعمل4500-NO2 B)، برای اندازه گیری قلیائیت از روش تیتریمتری (دستورالعمل2320 B) و برای اندازه گیری آمونیاک از روش اسپکتروفتومتری مادون قرمز استفاده شد. اندازه گیری میزان COD با استفاده از روش رفلکس باز (دستورالعمل 5220 B) انجام شد (۲۴). آزمایش‌های

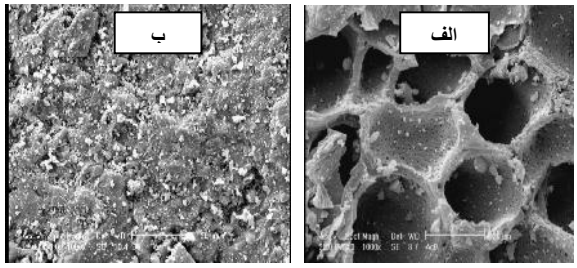
1.Grab sampling

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-03-28]

خصوصیات کربن فعال مطابق دستورالعمل‌های ASTM انجام گرفت (۲۵).

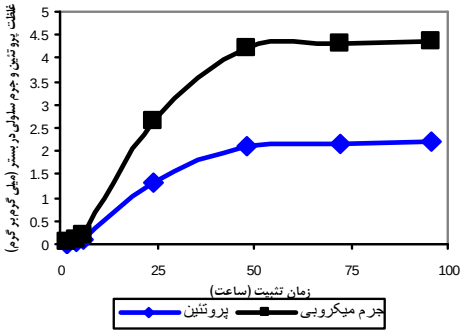
یافته‌ها

نتایج حاصل از تصویر میکروسکوپ الکترونی (شکل۱) و اندازه‌گیری پروتئین (شکل۲) بر روی کربن فعال گرانولی نشان داد که باکتری‌های دنیتریفایر به خوبی بر روی بستر چسبیده‌اند.



شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی: الف) کربن فعال قبل از تثبیت ب) کربن فعال بعد از تثبیت (X ۱۰۰۰)

به منظور تأیید تشکیل بیوفیلم بر روی بستر کربن فعال گرانولی میزان توده سلولی تشکیل شده نیز مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج آن در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲- میزان باکتری‌های تثبیت شده بر روی کربن فعال گرانولی با گذشت زمان (از شروع تثبیت تا ۹۲ ساعت عملیات تثبیت) با استفاده از یک سوسپانسیون باکتریایی حاوی ۳×۱۰۸ CFU/ ml باکتری دنیتریفایر

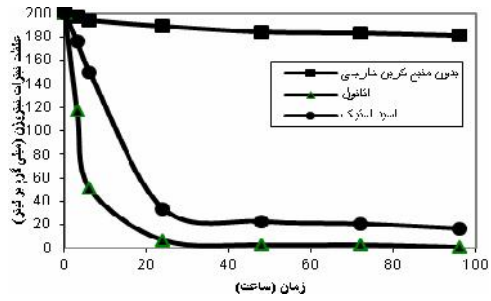
نتایج مربوط به جذب نیترات در کربن فعال در مقادیر مختلف pH در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۳- جذب نیترات با غلظت اولیه ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بر حسب نیتروژن توسط کربن فعال درpH های ۹-۵ و در زمان‌های ۳ ساعت تا ۷ روز در آزمایشات جداگانه

غلظت‌نیترات (mg/l) PH	۳ ساعت	۶ ساعت	روز دوم	روز سوم	روز چهارم	روز هفتم
۵	۱۹۱±۸/۳	۱۸۰±۱۱/۲	۱۷۹±۸/۹	۱۷۹±۷/۲	۱۷۶±۵/۷	۱۷۵±۹/۳
۷	۱۹۴±۵/۷	۱۸۹±۲/۱	۱۸۶±۹/۵	۱۸۴±۴/۵	۱۸۴±۴/۷	۱۸۳±۶/۷
۹	۱۹۵±۵/۶	۱۹۴±۶/۳	۱۹۰±۷/۶	۱۸۸±۴/۸	۱۸۶±۹/۷	۱۸۶±۸/۱

* علامت ± انحراف معیار میانگین ۵ نمونه است.

بیشترین میزان کاهش نیترات حدود ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر (۱۲/۵ درصد) بود که در pH=۵ و زمان ۷ روز تماس اتفاق افتاد. در pH های بالاتر از ۷ (pH مورد استفاده در این مطالعه) میزان کاهش کمتر از ۸/۵ درصد بود. نقش نوع منبع کربن در روند کاهش نیترات در آزمایشات جداگانه مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل۳).

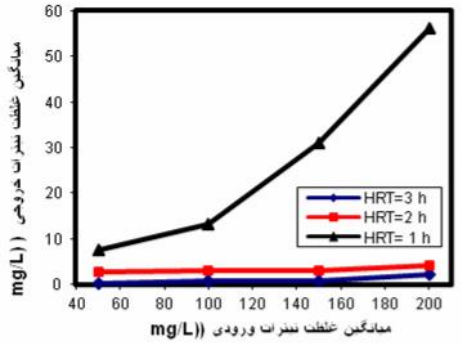


شکل ۳- اثر نوع منبع کربن بر دنیتریفیکاسیون بیولوژیکی برای غلظت ثابت نیترات (۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات- نیتروژن اولیه) از زمان ۳ تا ۹۶ ساعت با استفاده از باکتری‌های دنیتریفایر با غلظت اولیه ۳×۱۰^{۸}CFU/ml

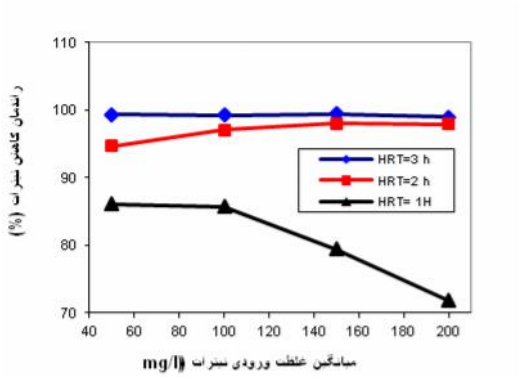
[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-03-28]

نتایج نشان داد که استفاده از کربن فعال بدون تثبیت باکتری‌های دنیتریفایر (راکتور شماره ۲) نقش مؤثری در دنیتریفیکاسیون نداشت و لذا بعد از ۷۰ روز بهره‌برداری از مطالعه حذف گردید و در ادامه فقط راکتور حاوی بستر تثبیت شده (راکتور شماره ۱) مورد بررسی قرار گرفت. کلیه نتایج بیان شده مربوط به راکتور با تثبیت باکتری می‌باشد. در راکتوری که تثبیت باکتری انجام نشده رشد توده سلولی قابل ملاحظه‌ای وجود نداشت. نرخ‌های دنیتریفیکاسیون، درصد حذف و میزان خروجی بر اساس میانگین کیفیت پساب خروجی از راکتورها در ۷ روز آخر هر نوبت کاری پایلوت بود (در این ۷ روز عملکرد راکتورها به حالت کاملاً پایدار رسیده بود).

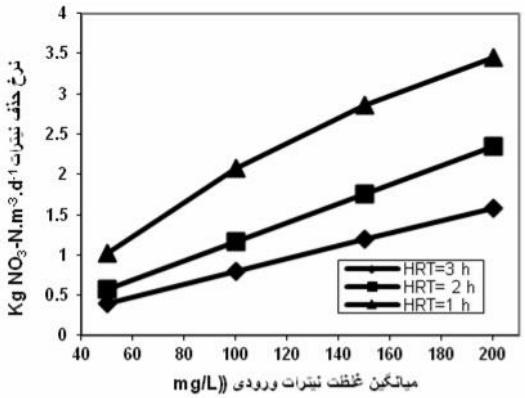
عملکرد راکتور بستر شناور به صورت نتایج خروجی نیترات (شکل ۴)، درصد کاهش نیترات (شکل ۵) و نرخ دنیتریفیکاسیون (شکل ۶) در غلظت‌های مختلف ورودی نیترات برای زمان‌های ماند ۳-۱ ساعت نشان داده شده است. نتایج حاصل نشان می‌دهد که راکتور شماره ۱ در ۴ غلظت مورد بهره‌برداری دارای عملکرد متفاوتی بوده و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین آنها وجود دارد ($p<0/05$). وضعیت دنیتریفیکاسیون در زمان‌های ماند ۳ ساعت مطلوب تر از زمان ۲ و ۱ ساعت بود.



شکل۴- میانگین غلظت نیترات خروجی از راکتور بستر شناور با غلظت‌های ورودی ۲۰۰-۵۰ میلی‌گرم بر لیتر (pH=7 و $T=27^{O}C$)

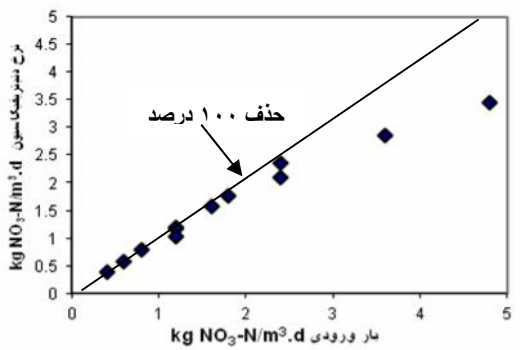


شکل۵- راندمان کاهش نیترات توسط راکتور بستر شناور با غلظت‌های ورودی ۲۰۰-۵۰ میلی‌گرم بر لیتر (pH=7 و $T=27^{O}C$)



شکل۶- نرخ حذف نیترات برای راکتور بستر شناور با غلظت‌های ورودی ۲۰۰-۵۰ میلی‌گرم بر لیتر (pH=7 و $T=27^{O}C$)

نرخ های دنیتریفیکاسیون برای مقادیر مختلف بارگذاری نیترات در شکل ۷ نشان داده شده است.



شکل ۷- نرخ‌های دنیتریفیکاسیون برای مقادیر مختلف بارگذاری نیترات ($0/4-4/8$ $kgNO_3\text{-}N/m^3.d$) در ۴ نوبت کاری پایلوت (غلظت‌های نیترات ورودی ۲۰۰-۵۰)

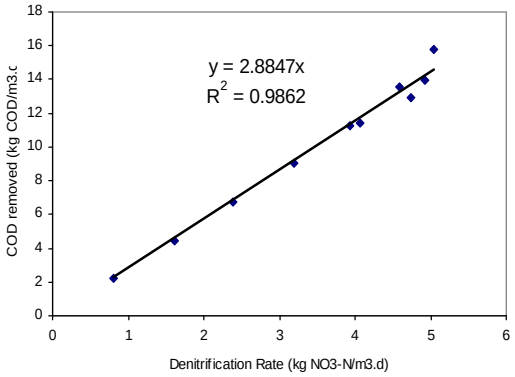
[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-03-28]

با توجه به این که باکتری‌های دنیتریفایر هتروتروفیک نیاز به منبع کربن برای دنیتریفیکاسیون دارند، عدم وجود کربن و یا کمبود آن می‌تواند محدود کننده سرعت دنیتریفیکاسیون باشد. لذا در راکتور شماره ۱ که اتانول به عنوان منبع کربن خارجی استفاده شده بود میزان COD ورودی (ناشی از اضافه کربن اتانول) و خروجی در کلیه مراحل کاری مورد پایش قرار گرفت (جدول ۴). همچنین سرعت دنیتریفیکاسیون در برابر حذف COD ناشی از اتانول برای راکتور شماره ۱ در شکل ۸ نشان داده شده است. شیب رگرسیون خطی ضریب استوکیومتری را نشان می‌دهد. در این راکتور مقدار ۲/۸۸ گرم COD ناشی از اتانول به ازای هر گرم نیترات- نیتروژن حذف شده، مصرف گردید.

جدول۴- میانگین مقادیر COD ورودی، حذف شده، خروجی و نسبت COD/NO3-N در راکتور شماره ۱ (بستر کربن فعال گرانولی با تثبیت باکتری و منبع کربن اتانول) با زمان ماند ۳ ساعت

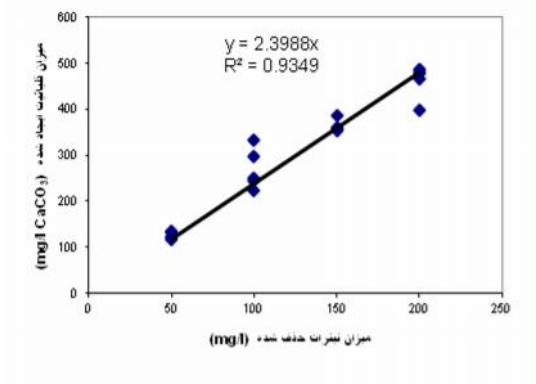
نسبت COD حذف شده به نیترات-نیتروژن احیاء شده	نیترات-نیتروژن حذف شده(mg/l)	COD باقیمانده (mg/l)	COD* حذف شده (mg/l)	COD*ورودی(mg/l)
۲/۹۳	۴۹/۵۳±۳/۲۹	۳±۱/۵۰	۱۴۶±۳/۲۹	۱۵۰
۲/۹۱	۹۹/۳۳±۴/۲۹	۶±۱/۹۶	۲۹۳±۲۱/۸	۳۰۰
۲/۸۴	۱۴۲/۱۷±۲/۸۶	۸±۱/۲۰	۴۴۰±۹/۷۸	۴۵۰
۲/۷۸	۲۰۱/۳۳±۸/۷۸	۴۰±۳/۹۶	۵۶۰±۲۱/۸	۶۰۰

*مقدار COD ورودی و حذف شده بر اساس میزان اتانول اضافه شده محاسبه شده است.



شکل۸- سرعت دنیتریفیکاسیون در برابر سرعت حذف COD برای راکتور ۱ (بستر کربن فعال گرانولی با تثبیت باکتری و منبع کربن اتانول) با زمان ماند ۳ ساعت

بین میزان احیای نیترات و قلیائیت تولیدی رابطه خطی و مستقیمی وجود داشت (شکل ۹). میزان قلیائیت تولیدی حدود ۲/۴ میزان نیترات احیاء شده بود.



شکل ۹- قلیائیت حاصل از دنیتریفیکاسیون در غلظت‌های اولیه مختلف نیترات برای راکتور شماره ۱ (بستر کربن فعال گرانولی با تثبیت باکتری و منبع کربن اتانول) با زمان ماند ۳ ساعت

در غلظت‌های اولیه نیترات در راکتور شماره ۱ با زمان ماند۳-۲ ساعت تا غلظت حدود ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر میزان تولید و تجمع نیتریت- نیتروژن کمتر از ۱ میلی‌گرم بر لیتر بود. میزان تولید و تجمع نیتریت با افزایش غلظت ورودی بالاتر از ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات و با زمان ماند ۱ ساعت به شدت افزایش داشت، به طوری که در غلظت ورودی ۲۰۰ میزان

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-03-28]

تجمع نیتریت به حدود ۳۵ میلی‌گرم بر لیتر رسید در حالی که این مقدار در شرایط مشابه با زمان ماند۲ و ۳ ساعت کمتر بود.

میزان یون آمونیوم تولیدی در طی فرآیند دنیتریفیکاسیون در تمام غلظت‌های نیترات ورودی مورد پایش قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تا غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات- نیتروژن ورودی در زمان ماند ۲ و ۳ ساعت، میزان آمونیاک تولیدی کمتر از ۱ میلی‌گرم بر لیتر بر حسب نیتروژن می‌باشد. مقدار توده سلولی تولیدی در بستر کربن فعال گرانولی بعد از ۴ هفته کار راکتور به حدود ۵/۳۲ میلی‌گرم جرم میکروبی به ازای هر گرم بستر رسید که این عدد حدوداً تا پایان فعالیت راکتور ثابت باقی ماند.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از اندازه‌گیری سطح ویژه کربن فعال گرانولی نشان داده است که این ماده دارای سطح ویژه بالایی است لذا جذب باکتری‌های دنیتریفایر در آنها به صورت مطلوبی صورت می‌گیرد و انتظار می‌رود با بهبود وضعیت تثبیت باکتری‌ها، سرعت دنیتریفیکاسیون بالایی نیز فراهم گردد. مطالعات انجام شده توسط فوگلار[1]، راجاپاکس[2]، و سالیلینگ[3] (۲۸-۲۶) تأیید کننده این موضوع است که افزایش سطح و تخلخل بستر باعث تماس بهتر باکتری با بستر و افزایش سرعت دنیتریفیکاسیون می‌شود.

نتایج حاصل از تصویر میکروسکوپ الکترونی نشان داد که بعد از تثبیت بر روی کربن فعال گرانولی، خلل و فرج موجود در کربن فعال پر شده و یک سطح یکنواخت را به وجود می‌آورد (شکل۱ب). راموس[4] و همکاران نیز از بستر ثابت که بر روی آن بیوفیلم تشکیل شده بود تصویر میکروسکوپ الکترونی تهیه و وضعیتی مشابه تصاویر این تحقیق مشاهده نموده بودند (۱۶). این تصاویر نشان داده که دانسیته باکتری‌ها زیاد است. همچنین راموس و همکاران و سیچ و وان ریجن[5] نیز تشکیل بیوفیلم بر روی بستر را به وسیله تصویر میکروسکوپ الکترونی، نشان داده‌اند که با توجه به بیوفیلم موجود در بستر می‌توان نتیجه گرفت که باکتری‌های دنیتریفایر می‌توانند به خوبی به سطح مورد نظر بچسبند و تشکیل لایه بیوفیلم را بدهند (۱۶،۲۹).

با توجه به نتایج حاصل از میزان پروتئین و جرم سلولی بر روی بستر (شکل ۲)، قبل از ۶ ساعت اول تماس سوسپانسیون میکروبی با بستر کربن فعال میزان توده سلولی بر روی بستر کم (کمتر از ۰/۱۸ میلی‌گرم بر گرم بستر) می‌باشد. اما از این زمان تا زمان ۴۸ ساعت این میزان به مقدار قابل توجهی افزایش یافته و در روز سوم به میزان حداکثر (۴/۳ میلی گرم به ازای هر گرم بستر) رسیده و از این زمان به بعد، این مقدار ثابت می‌ماند. ایتچبر[6] و همکاران از روش فوق برای اندازه گیری پروتئین و توده سلولی در بستر در ارزیابی گونه‌های میکروبی دنیتریفایر در راکتورهای انوکسیک استفاده نموده‌اند (۳۰). بیتون[7] نشان داده که برای تشکیل یک لایه بیوفیلم بر روی یک بستر نیاز به زمانی برای تشکیل سوبستراتوم بر روی بستر و تولید متابولیت‌های سلولی برای ایجاد خاصیت چسبندگی سلول می‌باشد (۳۱).

نتایج حاصل نشان داده است که جذب نیترات در کربن فعال نمی‌تواند نقش مؤثری در حذف نیترات از آب داشته باشد. نیترات مولکولی پایدار با حلالیت بالا دارای پتانسیل کمی برای جذب می‌باشد. این ویژگی حذف آن را از آب با استفاده از فرآیند جذب مشکل می‌نماید (۳۲).

1.Foglar
2.Rajapakes
3.Saliling
4.Ramos
5.Sich and Van Rijn
6.Etchebehere
7.Bitton

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-03-28]

نتایج نشان داده است که اسید استیک و اتانول می‌توانند به عنوان منبع کربن مورد استفاده قرار گیرند که در این خصوص اتانول مناسب‌تر بوده و روند حذف نیترات مطلوب‌تر می‌باشد. کریستنسون[1] و همکاران، در مقایسه اتانول و متانول به عنوان منبع کربن برای دنیتریفیکاسیون نشان داده‌اند که اتانول در مقایسه با متانول قابل دسترس‌تر می‌باشد و دنیتریفیکاسیون مؤثر در زمان ماند کوتاه تر انجام شده و سرعت دنیتریفیکاسیون ۲ تا ۳ برابر است (۳۳). مطالعات انجام شده توسط راجاکومار[2] و همکاران در استفاده از منابع مختلف کربن در دنیتریفیکاسیون بیولوژیکی نشان داده‌اند که اسید استیک هم می‌تواند به عنوان منبع کربن مورد استفاده قرار گیرد (۳۴). در بررسی عملکرد راکتور شماره ۱ در دنیتریفیکاسیون بیولوژیکی، بهترین عملکرد غلظت ورودی حداکثر ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات- نیتروژن در زمان ماند ۲ و ۳ ساعت بود. در این غلظت ورودی، استاندارد کیفیت پساب خروجی تأمین، راندمان بالای ۹۴ درصد در حذف نیترات حاصل و حداکثر سرعت دنیتریفیکاسیون $2/34\ kg\ N/m^3.d$ نیز تأمین گردید.

سالیلینگ در استفاده از خرده چوب و کاه به عنوان بستر و استفاده از منبع کربن خارجی دیگر مقدار حداکثر سرعت دنیتریفیکاسیون را $1/36\ kg\ N/m^3.d$ بدست آورده است (۲۸). نتایج بیانگر عملکرد بهتر این راکتور می‌باشد و عملکرد بهتر آن می‌تواند به علت نوع بستر به کار گرفته شده باشد. مطالعه انجام شده توسط راجاپاکس نشان داده است که دنیتریفیکاسیون در محیط‌های متخلخل به علت فراهم کردن سطح فعال بیشتر بهتر از محیط‌های غیرمتخلخل انجام می‌گیرد و در این گونه محیط‌ها رشد باکتری‌های دنیتریفایر بهتر و بیشتر انجام می‌گیرد (۲۷).

این راکتور در غلظت ورودی ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات- نیتروژن با زمان ماند ۱ ساعت و با راندمان ۸۶/۱۲ درصد قادر است میزان نیترات خروجی را به زیر حد استاندارد کاهش داده و سرعت دنیتریفیکاسیون معادل $1/02\ kg\ N/m^3.d$ را فراهم نماید. اما در غلظت‌های بالاتر از این مقدار به دلیل تولید مقادیر زیاد نیتریت و نیترات در خروجی از راکتور امکان استفاده از این زمان ماند برای حذف نیترات وجود ندارد. [1]

حداکثر میزان بارگذاری برای رسیدن به حدود ۱۰۰ درصد حذف نیترات، بین $2-3 kgNO_3\text{-}N/m^3.d$ است. با افزایش میزان بارگذاری سرعت دنیتریفیکاسیون نیز افزایش می‌یابد که این افزایش تا میزان بارگذاری حدود ۲/۵ افزایش یافته و سپس این افزایش کند می‌شود. مطالعه انجام شده توسط ورتووسک[3] نیز نتایج مشابهی را نشان داده است (۳۵). در مطالعه انجام شده توسط ورتووسک، کاربرد راکتور بستر ثابت با یک بستر توده سلولی ویژه (مخلوط PVC و کربن فعال پودری) برای تصفیه آب‌های زیر زمینی مورد مطالعه قرار گرفته است. در این مطالعه نیز با افزایش میزان بارگذاری نیتروژن، سرعت دنیتریفیکاسیون افزایش یافت.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داده است که در هیچ نوبت کاری پایلوت کمبود منبع کربن اضافی وجود نداشته است و منبع کربن به میزان قابل نیاز در دسترس بوده است. غلظت‌های COD پساب خروجی از راکتور شماره ۱ برای غلظت های اولیه نیترات $200\text{-}50\ mg/l$ به میزان ۳ تا ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر بر اساس زمان ماند و غلظت ورودی به راکتور بوده است. سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا نسبت COD به نیترات- نیتروژن را برای دنیتریفیکاسیون ۳/۵۷ تخمین زده است (۳۶). در این مطالعه مقدار COD مورد نیاز اندکی کمتر از مقادیر

1.Christensson
2.Rajakumar
3.Vrtovsek

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-03-28]

تخمینی می‌باشد که این امر می‌تواند به دلیل آزاد شدن COD ناشی از فعالیت میکروبی باشد که مقدار COD مورد نیاز را کمتر نشان می‌دهد.

قلیائیت تولیدی (۲/۴ میزان نیترات احیاء شده) کمتر از حد استوکیومتری پیش بینی شده برای اتانول به عنوان منبع کربن می‌باشد (۳۶). علت تولید کمتر قلیائیت استفاده از فسفات پتاسیم به عنوان بافر و منبع فسفر و پتاسیم در فاضلاب ساختگی می‌باشد. این ماده شیمیایی مقداری در برابر تولید قلیائیت و افزایش pH مقاومت کرده و بعد از آن کم کم میزان قلیائیت افزایش می‌یابد. میزان افزایش pH نیز در حدی نبوده است که محدود کننده سرعت دنیتریفیکاسیون باشد.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داده است که کربن فعال گرانولی تولیدی دارای خاصیت جذب اندکی برای نیترات موجود در آب می‌باشد. اما باکتری‌ها به خوبی بر روی سطح آن تثبیت می‌شوند و می‌تواند به عنوان بستر در دنیتریفیکاسیون بیولوژیکی مورد استفاده قرار گیرد و بدون مشکلات خاص بهره‌برداری، نظیر انسداد برای حذف نیترات از آب مورد استفاده قرار گیرد.

سرعت فرآیند دنیتریفیکاسیون در دنیتریفیکاسیون بیولوژیکی با استفاده از اتانول بستگی به زمان ماند هیدرولیکی و میزان بار نیترات ورودی دارد، به طوری که حداکثر سرعت دنیتریفیکاسیون در میزان بارگذاری ۴/۸ برای منبع کربن اتانول و کربن فعال گرانولی ۳/۴۵ کیلوگرم نیتروژن به ازای هر متر مکعب بستر در روز به دست آمد. وضعیت دنیتریفیکاسیون در زمان های ماند ۳ ساعت مطلوب‌تر از زمان‌های ماند ۲ و ۱ ساعت بود.

در این راکتور در هیچ نوبت کاری کمبود منبع کربن وجود نداشته است و منبع کربن به میزان قابل نیاز در دسترس بوده است. میزان تولید و تجمع نیتریت مشکل اساسی در این تحقیق نبوده است. در غلظت های ورودی ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات، با زمان ماند ۳ ساعت، میزان تولید و تجمع نیتریت- نیتروژن زیر ۱ میلی‌گرم بر لیتر بود. در زمان ماند ۱ ساعت از غلظت اولیه نیترات ۵۰ به بالا مقدار تجمع نیتریت به شدت افزایش یافته به طوری که در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به حدود ۳۵ میلی‌گرم بر لیتر رسید.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که در غلظت‌هایی که استاندارد پساب خروجی برای نیترات تأمین گردد میزان یون آمونیوم تولیدی کمتر از ۱ میلی‌گرم بر لیتر بر حسب نیتروژن می‌باشد. به طور کلی نیترات موجود در آب می‌تواند به طور مؤثری با استفاده از باکتری‌های دنیتریفایر تثبیت شده بر روی کربن فعال در راکتور بستر شناور حذف گردد.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی لرستان و مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان که در انجام این مطالعه ما را یاری کردند کمال تشکر و امتنان را داریم.

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-03-28]

References

1. Iran Enviornmental protection Agency. Envronmental Standards and Criteria. Diyerah Sabz Pub. 2003;p:54-47(In Persian).
2. World Health Organization. Guidelines for drinking water quality. WHO Pub . 2004;1(3):417-420.
3. Weyer PJ, Cerhan JR, Kross BC, Hallberg GR, Kantamneni J, Breuer G, et al. Municipal drinking water nitrate level and cancer risk in older women: the Lowa women health study. Epidemiolog. 2001;:12(3):327-338.
4. Ward MH, Dekok TM, Levallois P, Brender J. Drinking water Nitrate and health - recent findings and research needs. Environ Health prespect. 2005**;**113:1607-1614.
5. Coss A, Cantor KP, Reif JS, Lynch CF. pancreatic cancer and drinking water and dietary sources of nitrate and nitrite. Am J Epidemiol. 2004;159:693-701.
6. Oztürk N, Bektaş TE. Nitrate removal from aqueous solution by adsorption on to various materials. J Hazrd Mater. 2004;112:155- 162.
8. Paulo S. Estimate of denitrifying microbiota in tertiary sewage treatment and kinitics of the denitrification process using different sources of carbon. Braz J Microbial. 2003;34(2):104-110.
9. Mansell BO, Schroeder ED. Hydrogenotrophic denitrification in a microporous membrane bioreactor. Water Res. 2002; 36(19):4683-4690.
10. Rabah FK, Dahab MF. Nitrate removal characteristics of high performance fluidized - bed biofilm reactors. Water Res. 2004;38:3719- 3728.
11. Shrimali M, Singh KP. New method of nitrate removal from water. Environ Poll. 2001;112:351-359.
12. Tchobanoglous G, Burton FL, Stensel HD. wastewater engineering: Treatment and reuse. Mac Grow-Hill college, 2003.
13. Aslan U, Turkman A. Combined biological removal of nitrate and pesticides using wheat straw as substrate. Process Biochem. 2005;40: 935-943.
14. Oves B. Batch biological denitrification using Arundo donax, Clcrrhiza glabra and Garcilaria verrucosa as carbon source. Process Biochem. 2006;4(6):1289-1291.
15. Cang Y, Roberts DJ, Clifford DA. Development of cultures capable of reducing perchlorate and nitrate in high salt solutions. Water Res. 2004;38:3322- 3330.
16. Ramos AF, Gomez MA, Hontoria E, Gonzalez L. Biological nitrogen and phenol removal from saline industrial wastewater by submerged fixed-film reactor. J Hazard Mater. 2007;142:175-183.
17. Heylen K, Vanparys B, Wittebolle L, Verstrate W, Boon N. Cultivation of Denitrifying Bacteria, Optimization of Isolation Conditions and Diversity Study. 2003;49:249-256.
18. Kesseru P, Kiss I, Bihari Z, Polyak B. Biological denitrification in a continuous-flow pilot bioreactor containing immobilized Pseudomonas butanovora cells. Biores Technol. 2003;87:75-80.
19. Carrera J, Baeza JA, Vicent T, Lafuente J. Biological nitrogen removal of high-strength

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-03-28]

ammonium industrial wastewater with two-sludge system. Wat Res. 2003;37:4211-4221.
20. Walker M, Hobot JA, Newman GR, Bowler PG. Scanning electron microscopic examination of bacterial immobilization in a carboxmethyl cellulose (AQUACEL). Biomaterials. 2003;24(5):883-890.
21. Song SH, Choi SS, Park CK, Je Y. Novel hybrid immobilization of microorganism and its application to biological denitrification. Enzyme Microbial Technol. 2005;37:567-573.
22. Kabaivanova L, Dimitrov P. Nitrile degradation by free and immobilized cells of the thermophile Bacillus SP. UG-5B, isolated from polluted industrial waters. World J Microbiol Biotechnol. 2008;24(11):2383-2388.
23. Tarre S, Marsh A, Green M. Denitrification of greenhouse leachates in an upflow sludge blanket reactor. Water Sci Technol. 2000;l41(12):95-101.
24. APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater . 21th ed. Washington DC, USA, 2005.
25. ASTM. Standard test method for activated carbon. 2002;15:723–839
26. Foglar L, Sipos L, Bolf N. Nitrate removal with bacterial cells attached to quartz sand and zeolite from salty waste waters. World J Microbiol Biotechnol. 2007;23(11):1595-1603.
27. Rajapakes JP, Scutt, JE. Denitrification with natural gas and various new growth media. Wat Res. 1999;33:3723-3734.
28. Saliling WJB, Westerman PW, Losordo TM. Wood chips and wheat straw as alternative biofilter media for denitrification reactors treating aquaculture and other wastewaters with high nitrate concentrations. Aquacultur Eng. 2007;37(3):222-233.
29. Sich H, Van Rijn J. Scanning electron microscopy of biofilm formation in denitrifying fluidized bed reactors. Wat Res. 1998;31(4):733-742.
30. Etchebehere C, Errazquin I, Barrandeguy E, Dabert P, Molleta R, Muxi L. Evaluation of the denitrifying microbiota of anoxic reactors. FEMS Microbiol Ecology. 2001;35:259-265.
31. Bitton, G. Wastewater microbiology. New york: Willey-Liss, 2002;pp: 66-72.
32. Hamedaani HR, Kanda K, Kato F. Denitrification Activity of the bacterium Pseudomonas sp. ASM-2-3 Isolated from the Ariake Sea Tideland. J Biosci Bioengin. 2004;97(1):39-44.
33. Christensson M, Lie E, Welander T. A comparison between ethanol and methanol as carbon sources for denitrification. Wat Sci Technol. 1994;30(6):83-90.
34. Rajakumar S, Ayyasamy PM, Shanthi K, Thavamani P, Velmurugan p, Song YC, Lakshmanaperumalsamy P. Nitrate removal efficiency of bacterial consortium (pseudomonas sp. KW1 and bacillus sp. YW4) in synthetic nitrate-rich water. J Hazard Mater. 2008;157:553-563.
35. Vrtovsek J, Ros M. Denetrification of groundwater in the biofilm reactor with a specific biomass support material. Acta Chim Slov. 2006;53:396-400.
36. USEPA. Manual: Nitrogen Control. EPA/625/R-93/010. Evironmental Protection Agency, Washington DC, 1993.

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-03-28]