ترجمه فا

TarjomeFa.Com

ارائه شده توسط:

سایت ترجمه فا

مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده

از نشریات معتبر

حذف فنل از پساب های اشباع از نمک در راکتور غشای بیولوژیکی (MBR): مشخصه سازی عملکرد و میکروبیولوژی

چکیده

در این مطالعه از دو راکتور غشای بیولوژیکی (MBR) با غشاهای مسطح غوطه‌ور در آب که یکی از آنها در مقیاس شرایط آزمایشگاهی و دیگری در شرایط صنعتی بود، در دمای محیط برای تصفیه نوعی پساب صنعتی که توسط غلظتهای پایین فنل ($8-16\ mg\ L^{-1}$) و درجه بالای اشباع نمک (حدود $150-160mS\ cm^{-1}$) مشخص می‌شود، استفاده شد. در طی فعالیت هر دو راکتور، نرخ بارگذاری فنل به طور تصاعدی افزایش یافت و حتی در HRTهای بسیار پایین (0/5-0/7 روز) کمتر از 1 میلی گرم فنل در لیتر تعیین شد. ته نشینی رسوبات به وسیله نرخ هوادهی دو سیال عمود بر هم که توسط یک لایه از هم جدا می‌شوند در MBRها و توسط نفوذ متناوب به حداقل رسید. آنالیز اجتماع میکروبی هر دو راکتور نشان داد که اعضای گونه‌های هالوموناس و مارینوباکتر (باکتری گاما پروتئو) از اجزای عمده هستند. تجزیه فنل به وسیله رشد توسط واحدهای پرورش مارینوباکتر خالص نشان داد که این باکتری نقش عمده‌ای در حذف فنل از راکتورهای زنده بازی می‌کند.

کلمات کلیدی: DGGE، هالوموناس، مارینوباکتر، MBR، فنول

1. مقدمه

با وجود اینکه ترکیبات فنلی در پسابهای شهری به ندرت یافت می‌شود، اما بسیاری از اوقات در پسابهای برخی صنایع مانند خمیر و نورد، نساجی و صنایع پتروشیمی و پالایشگاهها وجود دارد. فنلها ترکیباتی شیمیایی شامل یک گروه هیدروکسیل هستند که به طور مستقیم به یک گروه هیدروکربن آروماتیک متصل می‌شود. چندین روش برای تجزیه فنل می‌تواند استفاده شود، مانند پروسه‌های اکسیداسیون پیشرفته (AOP) و پروسه‌های بیولوژیکی. هنگامی که پساب مورد مطالعه حاوی ترکیبات سمی نباشد که از فعالیت زیست توده جلوگیری کند، به دلایل اقتصادی، عملیات بیولوژیکی ترجیح داده می‌شود.

برخی از پسابهای صنعتی دارای فنل می‌توانند به دلیل انعطاف در فرآیند (مقاومت در برابر تغییرات غلظت فنل)، تراکم و کنترل آسان (برنر و همکاران 1992؛ بویترون و ارتیز 1997؛ میس و ماتا آلوارز 2002) به وسیله راکتور

ناپیوسته توالی سنجی بیولوژیکی (SBR) به طور موثر تصفیه شوند. از آنجا که میکروارگانیسم‌های عامل تجزیه فنل سرعت رشد نسبتا کمی دارند، برای بهبود حفظ زیست توده در تصفیه کننده‌ها، معمولاً زیست توده به مواد متخلخل متصل می‌شود (پوهاکا و جارونین 1992؛ بویترون و ارتیز 1997؛ گونزالس و همکاران 2001؛ سا و بواونتورا 2001؛ سگونتزوس و همکاران 2006). با این حال، کاربرد راکتورهای غشای بیولوژیکی (MBR)، حفظ میکروارگانیسمهای تجزیه کننده فنل را بدون خطر حفظ زیست توده به دلیل شستشوی نهایی تضمین می‌کند (کورنل و کراوس 2006؛ لسجین و هویسجس 2007).

در واقع استفاده از تکنولوژی MBR منجر به رسیدن به ظرفیت بسیار خوبی در حفظ زیست توده در راکتورهایی شد که با مجموعه‌های میکروبی با سرعتهای رشد پایین مشخصه‌سازی شدند (تریگو و همکاران 2006؛ لسجین و هویسجس 2007). گزارشهای بسیار کمی درباره تجزیه زیستی فنل در MBR ها ارائه شده است: باریوس مارتینز و همکاران در سال 2006 تصفیه پساب مصنوعی مربوط به فاضلابهای پتروشیمی خارج شده از یک پالایشگاه ($1/01mg\ phenol\ L^{-1}$) را مطالعه کردند. این محققان یک MBR را با ساختمان طرح غشای خارجی برای رسیدن به کارآیی حذف فنل تا حدود 100٪ به کار انداختند. از سوی دیگر ماروت و همکاران (2006) تجزیه زیستی فنل را در MBR (واحد غشای الیاف توخالی غوطه ور) برای تصفیه پساب مصنوعی با غلظت بالای فنل ($mg\ phenol\ 0/5-3L^{-1}$) با رسیدن به سرعتهای حذف بالا بررسی کردند. آن و همکاران (2008) از یک MBR (واحد غشای الیاف توخالی غوطه ور) برای تصفیه پسابهای بارگذاری شده با فنل استفاده کرده و هنگامی که تزریق فنل با غلظت پایین ($0/1gL^{-1}$) و غلظت بالا ($1/0gL^{-1}$) انجام شد، کارآیی خوبی نشان داد. مورنو آندراده و همکاران (2008) تصفیه پساب مصنوعی را با 4-کلروفنل ($600mgL^{-1}$) در یک MBR ناپیوسته توالی سنجی (واحد غشای استوانه‌ای غوطه ور) و به دست آوردن کارآیی حذف بالا تا بیش از 99٪ مورد مطالعه قرار دادند. اخیرا کاروکی و همکاران (2010) کارآیی حذف بالایی (100٪-99) $50mgL^{-1}$ از 4-کلروفنل را در یک MBR آزمایشگاهی (با ظرفیت 3/1 لیتر و واحد غشای الیاف توخالی) گزارش کردند که به صورت راکتور ناپیوسته توالی سنجی در زمانهای حفظ هیدرولیک (HRT) بین 12 تا 24 ساعت، بسته به طول سیکل، عمل می‌کند.

پساب صنعتی آلوده به فنل، میکروارگانیسمهای متعلق به طبقات نژادی مختلف را حفظ می‌کند (وان شی و یانگ 2000؛ واتانابه و همکاران 1998). به ویژه باکتری گاماپروتئو که مشخص شده نقش عمده‌ای در تشکیل توده

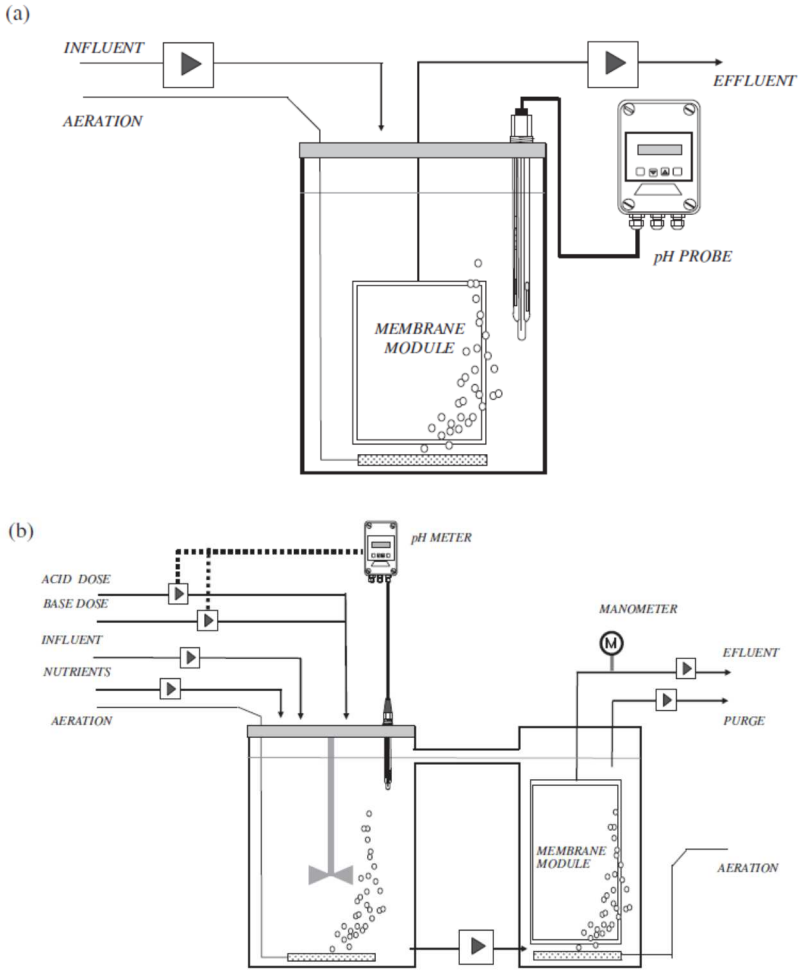
باکتری تجزیه کننده فنل در برخی سیستمهای تصفیه زیستی پساب صنعتی فنل دارد (وایتلی و بیلی 2000)، با این حال نقش اجزای باکتریایی ویژه در حذف فنل از این راکتورهای ریستی به ندرت نشان داده شده است.

در این مطالعه یک MBR آزمایشگاهی و یک MBR صنعتی برای تصفیه پساب صنعتی با غلظت بالای فنل و درجه بالای اشباع نمک آزمایش شد. هنگامی که هر دو راکتور تحت شرایط پایدار و تجزیه بالای فنل فعالیت کردند، ترکیب میکروبی آنها با روشهای مستقل و وابسته به کشت مطالعه شده و واحدهای تجزیه کننده فنل تعیین و مشخصه‌سازی شدند.

2. روشها

2. 1. راکتور غشای بیولوژیکی آزمایشگاهی

MBR آزمایشگاهی (5L) استفاده شده در این مطالعه در شکل 1a به طور شماتیک نشان داده شده است. این راکتور به صورت یک SBR فعالیت می‌کند. تصفیه کننده یک راکتور مستطیلی از جنس متاکریلات بود که شامل یک غشای مسطح غوطه‌ور (0/3 میکرومتر) و یک پروب pH (Crison pH 25) می‌باشد. هوادهی به وسیله دو دمنده هوا ($300Lh^{-1}$)انجام شد که متصل به یک سنگ متخلخل برای حصول اطمینان از توزیع همگن اکسیژن در مخلوط مایع بود. دو پمپ با حرکت کرم گونه (Ismatec REGLO و Selecta PERCOM-1) عمل تغذیه و نفوذ را در MBR انجام دادند. فعالیت راکتور آزمایشگاهی به وسیله یک کنترل کننده منطقی قابل برنامه ریزی (PLC; Siemens LOGO!) کنترل شد.



شکل 1. طرح MBR آزمایشگاهی (a) و MBR صنعتی (b) استفاده شده در این مطالعه.

2. 2. راکتور غشای بیولوژیکی صنعتی

MBR صنعتی ($8m^3$) دارای یک واحد ساختمانی غشای تخت جداگانه است (شکل 1b). محفظه واکنش دارای ظرفیت $4m^3$ است و مجهز به یک پروب pH می‌باشد. pH در محدوده 7/0-8/5 کنترل شد. اگر pH بیشتر یا کمتر از این محدوده باشد، اسید (HCl, 0.1N) یا باز (NaOH, 0.1N) اضافه می‌شود. هوادهی با استفاده از دو دمنده هوا در هر دو محفظه واکنش و محفظه غشا انجام شد. هر دو محفظه به یک پمپ گریز از مرکز متصل می‌شود که به طور پیوسته مایع مخلوط را از یک محفظه به محفظه دیگر پمپ می‌کند. تزریق پساب، افزودن مواد غذایی و نفوذ و پاکسازی لجن با استفاده از پمپهای گریز از مرکز انجام شد. از یک مانومتر که قبل از پمپ نفوذ قرار داشت، هنگامی که فشار بین غشایی بیش از 0/4bar بود، استفاده شد.

2. 3. آنالیز شیمیایی و شیمی فیزیکی

آنالیز ذرات جامد کل (TS)، ذرات جامد کل فرار (VTS)، ذرات معلق (SS)، ذرات جامد معلق فرار (VSS) و درجه قلیایی بودن براساس روشهای استاندارد (APHA, 1998) انجام شد. غلظت فنل به وسیله فاز معکوس کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) تعیین شد. کربن آلی کل (TOC) با استفاده از یک آنالیزور TOC (Dohrman DC-190) اندازه‌گیری شد. هدایت با استفاده از یک هدایت سنج (Crison CM 35) تعیین شد. غلظت پلی فنلها و پلی آنیلینها با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا- اسپکترومتری جرمی (HPLC-MS) تعیین گردید. غلظت پلی فرمالدهید با استفاده از رزونانس مغناطیس هسته (NMR; Bruker DMX500) اندازه‌گیری شد.

2. 4. محیطها و روشهای میکروبیولوژی وابسته به کشت

آب دریای مصنوعی (ASW) با نمکهای ASW (Scharlau، بارسلونا، اسپانیا) (در هر لیتر آب، 24/53g NaCl؛ g $4/11Na_2SO_4$؛ 11/2g $MgCl_2$؛ 1/16g $CaCl_2$؛ 0/042g $SrCl_2$؛ 0/7g KCl؛ 0/2g$NaHCO_3$؛ 0/1g KBr؛ g $0/0029H_3BO_3$؛ 0/003gNaF) به علاوه افزودنیهای (10mM NH_4NO_3 و 1mM Na_2HPO_4) و فلزات (در هر لیتر، 0/2g $ZnSO_4.7H_2O$؛ mg $FeSO_4.7H_2O$؛ 3mg $MnSO_4.H_2O$؛ 3mg $ZnSO_4.7H_2O$؛ 1mg $CoCl_2.6H_2O$؛ 0/123 گرم نمک نیتریلو استیک اسید دی سدیم) تهیه شد. صفحات آگار ASW با محیط آب منجمد و آگار خالص سازی شده (Peronadisa، مادرید، اسپانیا) آماده سازی شد. صفحات ASW-LB1/10 با نمکهای ASW، پپتون ($1gL^{-1}$)، عصاره مخمر ($0/5gL^{-1}$) و آگار (Scharlau) آماده سازی شد.

به منظور جداسازی باکتری هتروتروفی موجود در راکتورهای اشباع از نمک تجزیه کننده فنل، نمونه‌های مایع به صورت پی در پی در محلول نمکهای ASW استریل رقیق شد و بر روی صفحات ASW-LB1/10 و در همان محیط حاوی غلظت بالاتری از NaCl (غلظت نهایی $80gL^{-1}$) برای بهینه سازی شرایط اشباع نمک در راکتورهای بیولوژیکی قرار گرفت. همه ظرفها در شرایط 25°C در شرایط هوازی قرار گرفتند.

برای بررسی قابلیت تجزیه فنل اجزای به دست آمده، گروهها بر روی ظرفهای آگار ASW به سرعت حرکت کرده و در معرض بخارات فنل قرار گرفتند. این کار با قرار داردن ظرفها در کوزه دربسته حاوی ویال کوچکی با محلول فنل غلیظ (90٪ در آب) (Panreac، بارسلونا، اسپانیا) انجام شد. مجموعه دیگری از ظروف آگار ASW به همین ترتیب آغشته شده و در یک کوزه دربسته در شرایط یکسان، اما برای کنترل منفی بدون فنل، قرار داده شد.

محیطهای کشت هوازی مایع برای مطالعات تجزیه فنل در بطریهای 25 میلی لیتری حاوی 10ml ASW آماده شد و همراه با عما لرزش چرخشی (200rpm) در دمای 25ºC قرار گرفت.

2. 5. استخراج DNA و تکثیر PCR ژنهای ایوباکتریایی 16S rRNA

DNA کل از کنسرسیوم میکروبی از 200 میکرولیتر مایع معلق سلول حاصل از راکتور تجزیه کننده فنل با استفاده از ابزار جداسازی PowerSoil DNA استخراج شد (MoBio، کالیفرنیا، آمریکا). DNA خالص سازی شده در دمای 20ºC- نگهداری شد.

برای تغییر ماهیت آنالیز الکتروفورز ژل شیب (DGGE) ژنهای 16S rRNA، اجتماع میکروبی یا واحدهای منفرد با استفاده از آغازگرهای ایوباکتریایی GC40-63F و 518r تکثیر PCR شدند (ال فانتروسی و همکاران 1998) که در مطالعه ویلا و همکاران (2010) نیز توضیح داده شد. برای آنالیز توالی سنجی، ژنهای 16S rRNA از واحدهای باکتری خالص با استفاده از آغازگرهای 16F27 و 16R1521 (ویسبورگ و همکاران 1991) تکثیر PCR شدند.واکنشهای PCR و سیکلهای دمایی به شیوه ای که ویلا و همکاران (2010) توضیح دادند ، انجام شد. پس از آنالیز بر روی الکتروفورز ژل آگاروز، محصولات PCR مستقیما برای آنالیز DGGE استفاده شده یا با ابزار تصفیه جادویی DNA (Promega) خالص سازی شده و برای واکنشهای توالی سنجی مورد استفاده قرار گرفت.

2. 6. توالی سنجی و آنالیز توالی

واکنشهای توالی سنجی با یک پایان دهنده ABI Prism Big Dye (3.1) با استفاده از آغازگر ایوباکتریایی 16F27 و با توجه به راهنماییهای تولیدکننده آماده سازی شد. توالیهای DNA به دست آمده، ویرایش و مقایسه شده و با نرم افزار BioEdit مرتب شد (هال 1999). موقعیت یابی تکامل نژادی واحدهای باکتریایی و تعیین درصد شباهتها به نزدیکترین واحد مجاور با استفاده از تحقیقات BLAST در اینترنت در سرور NCBI به دست آمد (آلتشول و همکاران 1997). توالیهای نسبتا مناسب ژن 16S rRNA در بانک اطلاعاتی Gen Bank با شماره های نمونه HM467192، HM467193، HM467194 و HM467195 ذخیره شد.

2. 7. آنالیز DGGE

محصولات PCR از کنسرسیوم میکروبی ژلهای 1/5٪ آگاروز بررسی شده و به طور مستقیم برای آنالیز DGGE بر روی ژلهای 6٪ پلی اکریل آمید با درجات تغییر ماهیت داده در محدوده 40 تا 60٪ (تغییر ماهیت دهنده 100٪

دارای 7M اوره و 40٪ فرمالدهید است) استفاده شد. الکتروفورز در ولتاژ ثابت 100V به مدت 16 ساعت در بافر 1χTAE در دمای 60ºC بر روی یک دستگاه DGGE (شرکت C.B.S. Scientific، دل مار، کالیفرنیا) انجام شد. این ژلها به مدت 30 دقیقه با لکه ژل اسید نوکلئیک طلا 1χSYBR (Molecular Probes Europe BV، لایدن-هلند) لکه گذاری شد و تحت نور UV با استفاده از سیستم Chemi Doc XRS (Bio-Rad، کالیفرنیا) با نرم افزار Quantity One (Bio-Rad) عکس برداری شد.

2. 8. دوره زمانی تجزیه زیستی فنل

از سویه باکتریایی PHE025 برای آغشتن مجموعه های توانایی مخازن 25 میلی لیتری حاوی 10ml ASW با فنل ($100mgL^{-1}$) به عنوان تنها منبع کربن استفاده شد. مخازن آغشته نشده استریل و مخازن آغشته شده بدون فنل به عنوان کنترل استفاده شدند. محیطهای کشت در دمای 25ºC تحت شرایط کاملا هوازی (لرزش چرخشی، 200rpm) قرار گرفتند. نمونه‌های دوتایی در زمانهای 0، 14، 23، 30، 41، 55 و 72 ساعت از کنترلها و محیطهای کشت حذف شده و برای شمارش سلول زیست پذیر و تعیین کمی فنل استفاده شد (HPLC).

3. نتایج و بحث

3. 1. مشخصه‌سازی پساب

پساب آزمایش شده در این مطالعه از کارخانه پلیمریزاسیون تهیه شد. همانطور که در جدول 1 نشان داده شده است، این پساب عمدتا به وسیله غلظت فنل در محدوده $8-16mgL^{-1}$، میزان اشباع نمک بسیار بالا (حدود 95 حل شده در $TS\ L^{-1}$؛ $160mS\ cm^{-1}$)، غلظت پایین TOC و pH حدود 8 (pH این پساب قبل از انجام عملیات کنترل شد) مشخصه‌سازی شد. برای مشخصه‌سازی TOC موجود در پساب صنعتی، غلظت پلی فنلها، پلی آنیلینها و پلی فرمالدهیدها آنالیز شد، اما هیچ یک از این گونه‌ها در پساب شناسایی نشد (استانه شناسایی 200ppb).کربن غیرآلی، عملا وجود نداشت و بنابراین ظرفین بافر این پساب بسیار محدود بود. از آنجا که پساب صنعتی دارای کمبود مواد غذایی برای تشکیل میکروارگانیسمهاست، NH_4NO_3 و KH_2PO_4 برای به دست آوردن نسبت 100:5:1 ترکیب C:N:P به منظور حصول اطمینان از رشد متعادل زیست توده اضافه شد.

جدول 1. مشخصه‌های پساب صنعتی در این مطالعه.

پارامتر	واحدها	پساب	خروجی تحت عملیات قرار گرفته
pH	-	7/8-8/3	8/4
غلظت فنل	mg phenol L^{-1}	8/3 -15/6	<0/5
کربن غیرآلی (IC)	mg C L^{-1}	تعیین نشده	تعیین نشده
کربن آلی کل (TOC)	mg C L^{-1}	94/4 -143/4	76/4 -106/4
پلی فنلها	mg L^{-1}	تعیین نشده	تعیین نشده
پلی آنیلینها	mg L^{-1}	تعیین نشده	تعیین نشده
پلی فرمالدهیدها	mg L^{-1}	تعیین نشده	تعیین نشده
قدرت بازی	mmol L^{-1}	1/4	1/4
هدایت	mS cm^{-1}	149-163	149-163
ذرات جامد کل (TS)	g TS L^{-1}	94/2-96/1	92/8-95/9
ذرات جامد معلق کل (TSS)	g TSS L^{-1}	<0/03	تعیین نشده
ذرات جامد کل فرار (VTS)	g VTS L^{-1}	0/42-0/87	0/35-0/75

3. 2. عملکرد MBR در شرایط آزمایشگاهی

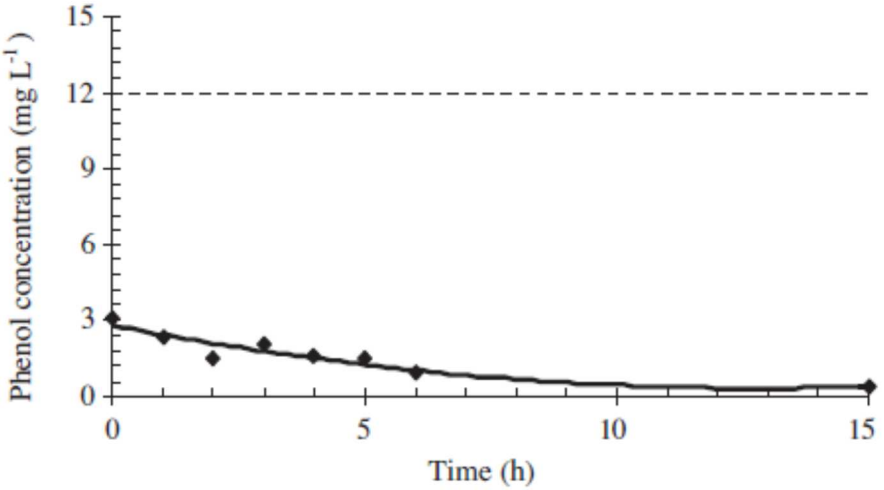
پساب صنعتی در ابتدا به وسیله راکتور بیولوژیکی پیوسته با توده زیستی متصل به آن که در آن سرعت بارگذاری فنل به طور فزاینده‌ای افزایش یافت و کمتر از 1mg phenol L^{-1} در پساب برای زمانهای حفظ هیدرولیک (HRT) به مدت بیش از یک روز بود، تحت عملیات قرار گرفت. برای سرعتهای بالاتر بارگذاری فنل، جدایی بیوفیلمها و شستشوی زیست توده حاضر در تصفیه کننده مشاهده شد. بنابراین، تصمیم بر این شد که عملکرد راکتور غشای بیولوژیکی (MBR) در شرایط آزمایشگاهی به منظور پیشنهاد عملیات فشرده تر با قابلیت کار در HRTهای پایینتر و جلوگیری از شستشوی زیست توده مورد آزمایش قرار گیرد.

3. 2. 1. آغشته سازی MBR

MBR با پساب VSS حاصل از راکتور پیوسته با توده زیستی متصل آغشته شد. پساب این راکتور به مدت 2 ماه نگهداری شد. فرض بر این شد که سینتیک تجزیه فنل از زیست توده موجود در این پساب به واسطه مدت زمان طولانی، اثرپذیری زیادی ندارد که این موضوع توسط بویترون و ارتیز (1997) توضیح داده شد. سپس این پساب از میان یک غشای تخت اولترافیلتراسیون به منظور تجمع VSS در آب نگهداری شده عبور داده شد. در پایان این مدت، 350 mg VSS L^{-1} به راکتور رسید.

3. 2. 2. راه اندازی MBR

خط مشی اولیه در تعیین حداکثر ظرفیت تجزیه فنل زیست توده غلیظ در MBR، سرعت حذف بیولوژیکی فنل به صورت زیر ارزیابی شد: 1/5 لیتر پساب ($15mg\ phenol\ L^{-1}$) به 3/5 لیتر مایع مخلوط اضافه شد (نشان دهنده حجم تبادل 30٪ در MBR) و غلظت فنل در ه ساعت اندازه‌گیری شد. اضافه کردن فنل ناپیوسته بود و تا رسیدن غلظت فنل اولیه به حدود $3\text{-}4/5mg\ phenol\ L^{-1}$ ادامه داشت. براساس داده های به دست آمده از مقالات (وولارد و ایروین 1995؛ پیتون و همکاران 2002)، مشاهده شد که این غلظت فنل به مفهوم جلوگیری از فعالیت زیست توده نیست. شکل 2 نزول غلظت فنل را در طی این آزمایش ناپیوسته نشان می‌دهد که نشان دهنده ظرفیت تجزیه فنل زیست توده است. علاوه بر این، مقدار pH (حدود 8/5) به دلیل غلظت نسبتا پایین فنل تجزیه شده، دارای اختلاف قابل اندازه‌گیری نیست.



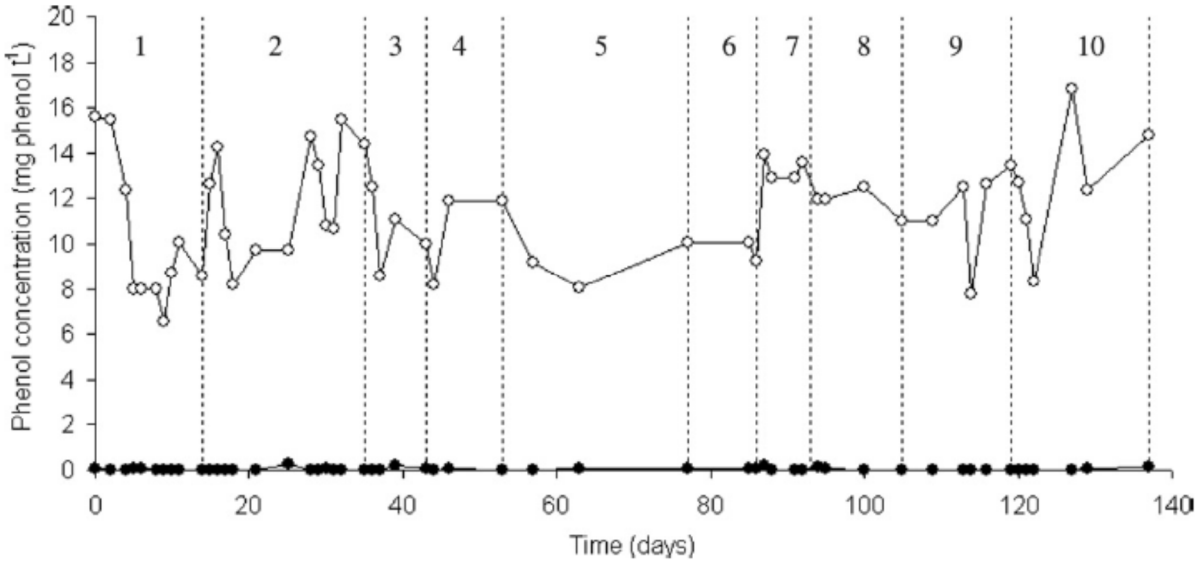
شکل 2. سرعت حذف بیولوژیکی فنل در MBR. غلظت فنل در مخلوط مایع (مربع) و غلظت فنل در پساب ورودی (خط چین).

3. 2. 3. تجزیه فنل در MBR

هنگامی که ظرفیت حذف بیولوژیکی فنل درون MBR ارزیابی شد، راکتور به عنوان یک راکتور ناپیوسته توالی سنجی (SBR) در HRT 3/4 روز با تبعیت از یک سیکل 6 ساعته MBR عمل کرد. تغذیه پساب در طی 3 ساعت اول طول هر سیکل انجام شد. در طی 1/25 ساعت بعدی سیستم برای حذف کامل فنل باقیمانده تحت شرایط هوادهی قرار گرفت و 1/75 ساعت باقیمانده صرف نفوذ شد. هوادهی در طول سیکل فعالیت حفظ شد، زیرا این عمل در طی تجزیه هوازی فنل ضروری است و از آلوده کردن غشا جلوگیری می‌کند (کورنل و کراوس 2006). علاوه بر این، پمپ نفوذ برای جلوگیری از آلوده شدن غشا به طور متناوب کار کرد (همانطور که توسط تولیدکننده

غشا توصیه شد). ایجاد موج در این مطالعه انجام نشد زیرا می‌تواند منجر به ایجاد اثرات منفی برای غشای تخت شود. به علاوه، زیست توده موجود و تولید شده در MBR غیر انبوه بود که با نتایج گزارش شده توسط آن و همکاران (2008) مطابقت دارد.

در این کار، چندین حالت فعالیت (یا دوره زمانی) در MBR انجام شد که در آن سرعت بارگذاری پساب به طور فزاینده افزایش یافت. شکل 3 سیر تکاملی غلظت فنل در سیال ورودی و خروجی MBR به عنوان HRT کاهش یافته را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده شد، بازده حذف فنل بیش از 96٪ بود، با این حال سرعت بارگذاری پساب صنعتی افزایش یافت و تغییرات شدید در نرخ جریان اتفاق افتاد: در طی 5 روز، HRT تا 3/6 روز افزایش یافت، اما در دوره زمانی بعدی HRT سیستم تا 1/3 روز، بدون تجمع فنل به شدت کاهش پیدا کرد. در نتیجه، در طی کل دوره فعالیت، کیفیت خروجی (جدول 1) نسبتا ثابت باقی ماند.



شکل 3. عملکرد MBR برای تصفیه پساب صنعتی حاوی فنل (دایره توخالی: غلظت ورودی؛ دایره توپر: غلظت خروجی). (دوره‌ها: 1(HRT= 3/6 روز)، 2(HRT= 1/9 روز)، 3(HRT= 1/3 روز)، 4(HRT= 1/9 روز)، 5(HRT= 3/6 روز)، 6 (HRT= 1/3 روز)، 7(HRT= 1/1 روز)، 8(HRT= 0/75 روز)، 9(HRT= 0/5 روز)، 10(HRT= 0/45 روز).

همانطور که در جدول 1 نشان داده شده است، غلظت فنل در پساب خروجی همواره کمتر از $0/5 mg\ L^{-1}$ بود. کربن آلی کل (TOC) پساب حدود 140-90 بود و بنابراین تنها مربوط به فنل نبود. بازده 26-19 درصدی حذف TOC، در طی فعالیت MBR مشاهده شد. هدایت و کل ذرات جامد حل شده ورودی و پساب تحت عملیات قرار

گرفته تقریبا یکسان بودند که نشان می‌دهد میزان نمک در راکتور حفظ نشده است. علاوه براین، ذرات جامد معلق در خروجی در نتیجه فیلتراسیون غشا عملا بسیار کم (کمتر از $0/04gL^{-1}$) بود.

پارامترهای مهم فعالیت MBR در طی 10 دوره در جدول 2 خلاصه شده است. در این دوره نرخ ویژه بارگذاری فنل $35g\ (m^3day)^{-1}$ بود که به طور موثر تحت عملیات قرار گرفت (با بازده بیش از 98٪). با توجه به جدول 2 برجسته شدن این نکته که در پساب ورودی، نرخ VSS/SS کمتر از 1/3٪ بود، در حالی که در تصفیه کننده این نسبت همیشه بیش از 4/3٪ بود، مهم است. این واقعیت نشان می‌دهد که غلظت VSS موجود در راکتور به تجمع ذرات جامد گرفته شده از ورودی مربوط نیست اما با رشد کنسرسیوم میکروبی با توانایی تجزیه فنلهای موجود در پساب در ارتباط است. برای آنالیز میکروبیولوژی، نمونه ها در MBR آزمایشگاهی در روز 116 استخراج شد.

جدول 2. پارامترهای عملکردی MBR.

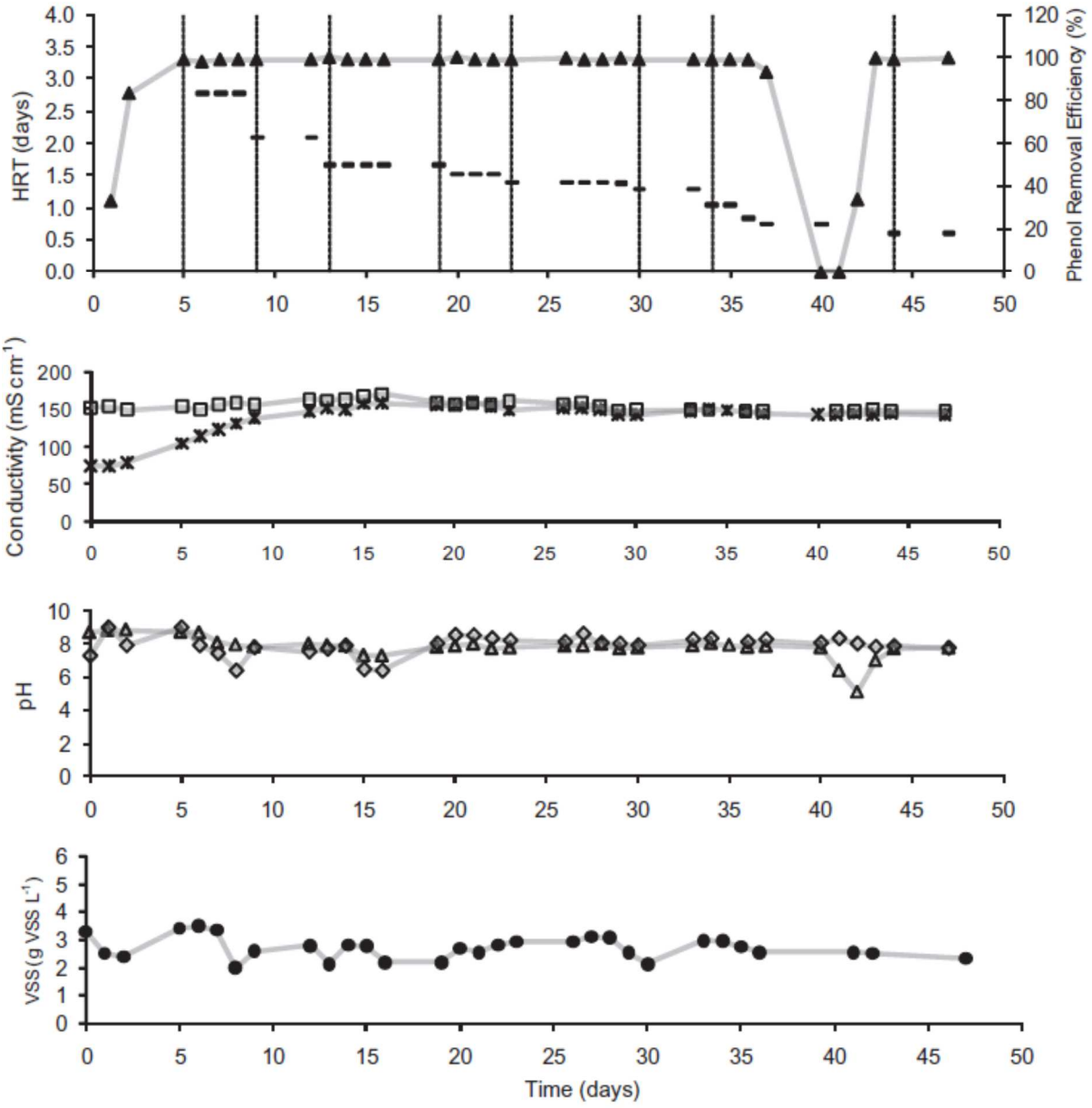
پارامترهای عملکردی MBR	واحدها	مقدار
طول سیکل	h	6
تغذیه	h	3
نفوذ (عمل متناوب)	h	1/75
VSS	$mg\ VSS\ L^{-1}$	480
%VSS/SS	٪	>4/5
زمان بقای ذره جامد (SRT)	روز	>100
زمان بقای هیدرولیک (HRT)	روز	0/45
pH	-	8/4
هدایت	$mS\ cm^{-1}$	149-163
نرخ بارگذاری ویژه فنل	$g\ phenol\ (m^3\ reactor\ day)^{-1}$	35
بازده حذف فنل	٪	>98

3. 3. فعالیت MBR در شرایط صنعتی

MBR صنعتی که در بالا توضیح داده شد برای آزمایش تجزیه بیولوژیکی فنل در مقیاس بزرگتر راه اندازی شد. MBR صنعتی با زیست توده گرفته شده از WWTP صنعتی آغشته شد که COD با قابلیت تجزیه بیولوژیکی در هدایت نسبتا بالا (حدود $60mS\ cm^{-1}$) تحت عملیات قرار گرفت. برای شروع به کار راکتور چند آزمایش ناپیوسته انجام شد که در آنها پساب صنعتی به راکتور اضافه شد و غلظت فنل به مقدار قبلی رسید. براساس سرعت ثبت

شده حذف فنل، تزریق پیوسته به MBR برای رسیدن به HRT در 2/8 روز انجام شد. با پیشرفت کار، این HRT تا هنگامی که مقدار آن به 0/7 روز برسد، کاهش پیدا کرد.

شکل 4، بررسی بازده حذف فنل، HRT، هدایت (ورودی و خروجی)، pH (ورودی و خروجی) و VSS را در محفظه واکنش در طول دوره آزمایش کامل نشان می‌دهد. بازده حذف فنل همواره بیش از 99/5٪ بود، به استثنای روزهای 37-40، که شکل مربوط به سیستم کنترل pH، در نتیجه عدم کالیبراسیون پروب pH بود. هنگامی که حداقل مقادیر pH5.5 به دست آمد، کاهشی در تجزیه فنل و در نتیجه تجمع این آلاینده ثبت شد. با این حال هنگامی که پروب pH مجددا کالیبره شد، نرخهای بالای حذف بیولوژیکی فنل بسیار سریع بازیابی شد که در شکل 4 نشان داده شده است.



شکل 4. عملکرد MBR برای تصفیه پساب صنعتی حاوی فنل در شرایط کارخانه (بازده حذف فنل (مثلث توپر)؛ HRT(خط چین)؛ هدایت ورودی (مربع توخالی)؛ هدایت خروجی (ضربدر)؛ pH ورودی (لوزی توخالی)؛ pH خروجی (مثلث توخالی)؛ غلظت VSS در راکتور (دایره توپر)).

غلظت ذرات جامد معلق فرار در راکتور حدود $2/5g\ VSS\ L^{-1}$ تثبیت شد (پاکسازی زیست توده انجام نشد زیرا با بررسی انجام شده مشخص شد که این مقدار VSS پایین است و برای غشا مضر نیست). هدایت در ورودی و خروجی یکسان بود که نشان می‌دهد هیچ نمکی در سیستم جمع نشده است. علاوه بر این، فشار بین غشایی (TMP) همواره کمتر از 0/4bar بود، بنابراین تمیز کردن غشا در این دوره آزمایش ضروری می‌باشد. برای آنالیز میکروبیولوژی، نمونه ها در محفظه هوادهی در روز 34 استخراج شدند.

3. 4. جداسازی و شناسایی سویه های باکتریایی حاصل از MBRها

شمارش و جداسازی سویه باکتریایی زنده ماندنی از راکتور صنعتی با استفاده از دو نوع محیط جامد دارای غلظتهای مختلف نمک انجام شد. پس از 48 ساعت نگهداری، به ظروف ASW LB1/10 شماره های $1/0\chi10^{7}cfuml^{-1}$ اختصاص پیدا کرد در حالی که ظروف دارای همان مواد با NaCl اضافی ($80gL^{-1}$) $2\chi10^{3}cfuml^{-1}$ تولید کرد. گروههای نشان دهنده مورفولوژیهای مختلف خالص سازی شده و برای تکثیر و توالی سنجی ژن 16S rRNA ویژه استفاده شد. آنالیز توالی سنجی نشان داد که همه واحدهای جمع آوری شده (12) از ظروف با نمک بالا بسیار شبیه بوده و به احتمال زیاد (99٪ شباهت در توالی) به گونه های هالوموناس، یک باکتری نمک دوست که در طبقه گاماپروتئوباکتریها قرار می‌گیرد، تعلق دارد. با این حال، تفاوتهای کوچک (0/4٪) مشاهده شده در توالیهای 16S rRNA بین برخی از این واحدها نشان می‌دهد که اجتماع باکتریایی راکتور حداقل دارای دو گونه متفاوت هالوموناس است، یکی توسط واحدهای PHE004 و PHE008 و دیگری توسط سایر واحدهای به دست آمده نشان داده می‌شود.

شش واحد جمع‌آوری شده از ظروف کم نمک توالیهای ژن 16s rRNA یکسان را برای سویه‌های هالوموناس نشان می‌دهد که قبلا در ظروف با نمک زیاد به دست آمد. چهار واحد اضافی، گونه های تطبیقی از جنس مارینوباکتر، توالی ژن 16S rRNA یکسانی داشتند. به طور قابل توجهی در مطالعه اولیه میکروبیولوژی راکتور آزمایشگاهی

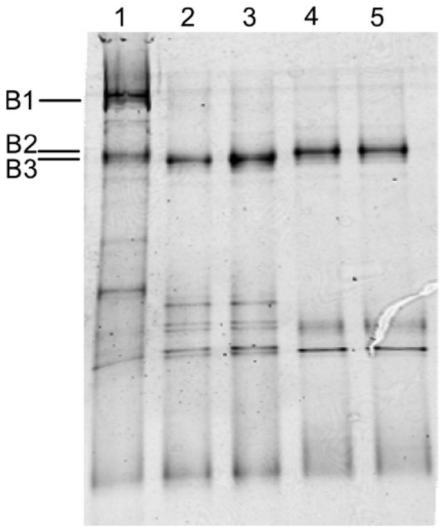
همه واحدهای به دست آمده به عنوان مارینوباکتر شناخته شدند (واحدهای PHEL 01,02,03) با توالیهایی که نشان می‌دهد همه سویه‌ها به یک گونه یا گونه‌هایی مربوط به یک جنس تعلق دارند.

برای ثابت کردن نقش این بکتریها ر تجزیه فنل هر یک از واحدهای حاصل از راکتور صنعتی بر روی ظرفهای ASW آغشته شده و در معرض بخارات فنل به عنوان تنها منبع کربن قرار گرفت. تنها واحدهای شناخته شده به عنوان مارینوباکتر رشد قابل توجهی با توجه به ظروف کنترل بدون منبع کربن نشان دادند. یکی از آنها، PHE025، برای بررسی بیشتر انتخاب شد. این نتایج نشان دادند که مارینوباکتر نقش عمده‌ای در حذف فنل از راکتور صنعتی بازی می‌کند. حقیقت این است که واحدهای هالوموناس آزمایش شده رشد قابل توجهی بر روی فنل در شرایط مطالعه نشان ندادند و سوال بدون پاسخی درباره دلیل فراوانی نسبی آنها در راکتور باقی می‌ماند. مارینوباکتر عضوی از گاماپروتئوباکتر از خانواده آلتروموناداسئا است. این گونه (M. هیدروکربنو کلاستیکوس sp.17) یک گونه نمک دوست است که در آب دریاها زندگی می‌کند (گاتیر و همکاران 1992). سویه‌های معین این باکتری مسئول تجزیه هیدروکربنهای آروماتیک شناخته شده است (نیکلسون و فاتپور 2004؛ ویلا و همکاران 2010؛ برلندیس و همکاران 2010).

3. 5. آنالیز ساختار اجتماع میکروبی در راکتور صنعتی

تکثیر PCR ژنهای 16S rRNA اجتماع کامل باکتریایی در راکتور صنعتی و آنالیز DGGE پس از آن محدودیتهای عمده‌ای را نشان داد و بنابراین نشان می‌دهد که تنوع نسبتا کم جمعیتی با شرایط انتخابی سیستم سازگار است (شکل 5). آنالیز PCR-DGGE محیطهای کشت خالص واحدهای مارینوباکتر PHE025 و PHE026 و واحدهای هالوموناس PHE021 و PHE022 دو نوار (B2 و B3) با مهاجرت مشابه تولید کرد که با یکی از نوارهای عمده در اثر انگشت DGGE اجتماع میکروبی کامل همزمان بود. این نتیجه با نتایج آنالیز وابسته به محیط کشت مطابقت خوبی دارد که نشان می‌دهد هالوموناس .sp و مارینوباکتر .sp اجزای اصلی هستند. پروفیل DGGE اجتماع کامل نواری قوی با تحرک آهسته‌تر (B1) را نمایش می‌دهدکه نشان دهنده حضور اجتماع میکروبی فراوان است که با شرایط محیط کشت استفاده شده در این مطالعه جمع‌آوری نشده بود و بنابراین شناسایی نشد. نوارهای DGGE کوچکتر به دست آمده برای اجتماع میکروبی کامل نیز می‌تواند به اجزای میکروبی ناشناخته مربوط باشد که در

ظروف آگار ظاهر نشد. از این رو احتمال اینکه جمعیتهای میکروبی دیگری علاوه بر مارینوباکتر .sp می‌توانند در تجزیه فنل نقش داشته باشند نمی‌تواند غیرمحتمل باشد.



شکل 5. آنالیز DGGE ژن 16S rRNA تکثیر شده با PCR از واحد DNA جدا شده از اجتماع باکتریایی کامل و سویه‌های باکتریایی خالص. ((1) اجتماع باکتریایی کامل از محلول تجزیه کننده فنل در راکتور صنعتی؛ (2) سویه PHE021 هالوموناس .sp؛ (3) سویه PHE022 هالوموناس .sp؛ (4) سویه PHE025 مارینوباکتر .sp؛ (5) سویه PHE026 مارینوباکتر .sp). (B1 گونه عمده باکتریایی مشخصه سازی نشده، B2 و B3، نشان دهنده اعضای باکتریایی اجتماع مارینوباکتر .sp و هالوموناس .sp).

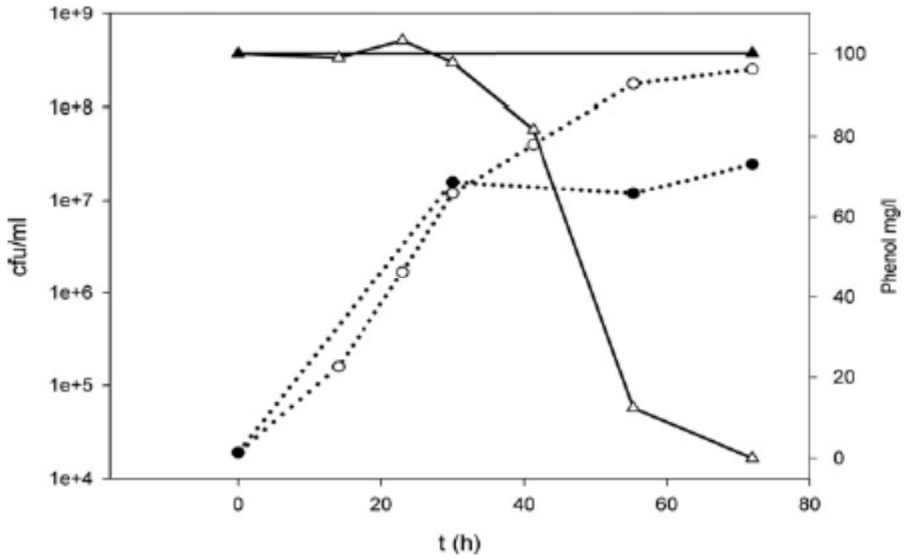
شرایط نمکی بالای راکتور صنعتی با حضور سویه‌های مارینوباکتر و هالوموناس به عنوان اجزای عمده اجتماع میکروبی سازگار است. این شرایط و حضور فنل به احتمال زیاد به اندازه کافی برای مجبور کردن به انتخاب سویه‌های مارینوباکتر محدودکننده است و همچنین توضیح این واقعیت که مجتمعهای میکروبی با مقاومت کمتر در برابر نمک می‌توانند مربوط به تجزیه فنل در محیطهای با نمک کمتر تشخیص داده شوند (واتانابه و همکاران 1998) در این مطالعه تشخیص داده شد.

3. 6. تجزیه وابسته به رشد فنل به وسیله سویه PHE025 مارینوباکتر .sp

محدوده غلظتهای فنل که توسط سویه PHE025 تحمل شد در محفظه‌هایی با محیط ASW و 25، 50، 100، 200، 500 و $1000\mu gL^{-1}$ فنل آزمایش شد و با سوسپانسیون تازه‌ای از یک مجموعه منفرد مارینوباکتر PHE025 در 1ml ASW آغشته شد. مجموعه‌ای از بطریهای آغشته نشده به سوسپانسیون به عنوان نمونه شاهد مورد استفاده قرار گرفت. پس از 48 ساعت نگهداری، رشد به وسیله افزایش کدری تشخیص داده شد که تنها در محیطهای حاوی $200\mu gmL^{-1}$ فنل وجود داشت، بنابراین مشخص شد که غلظتهای بالاتر برای این باکتری سمی هستند،

شمارش باکتریهای زنده ماندنی پس از 4 روز نگهداری ثابت کرد که حداکثر رشد با $100\ \mu gmL^{-1}$ فنل به دست می‌آید (داده‌ها نشان داده نشده‌اند).

با استفاده از فنل به عنوان تنها منبع کربن و انرژی به وسیله PHE025 مارینوباکتر .sp به وسیله نشان دادن حذف تصاعدی این ماده از محیط ASW (HPLC) همراه با افزایش در تعداد سلولها اثبات شد (شکل 6). مجموعه‌ای از محفظه‌های حاوی 10ml ASW با فنل ($100\mu gmL^{-1}$) با یک سوسپانسیون باکتریایی از سویه PHE025 نگهداری شد. در چندین فاصله زمانی محیطهای کشت دو برابر شده و کنترلها از محفظه رشد گرفته شده و برای شمارش سلولهای زنده ماندنی و اندازه‌گیری غلظت فنل استفاده شد. کاهش غلظت فنل در محیطهای کشت پس از 24 ساعت آغاز شد و این ترکیب پس از 72 ساعت به طور کامل حذف شد. این کار با افزایش 5log در تعداد سلولها (از 10^4 تا $10^7 cfu\ ml^{-1}$) همراه بود. محیطهای کنترل کشت بدون فنل افزایشی قابل توجه در تعداد سلولهای زنده ماندنی نشان دادند، با این حال همان نور که در شکل 6 نشان داده شده، این رشد در طی 24 ساعت اول نگهداری و هنگامی که از فنل استفاده نشد، اتفاق افتاد. در واقع این رشد اولیه به استفاده منبع کربن که در فنل و محیطهای کشت موجود است، ارتباط پیدا نمی‌کند و می‌تواند براساس مواد برگشتی احتمالی در سلولهای باکتریایی در تلقیح اولیه توضیح داده شود.



شکل 6. دوره زمانی تجزیه فنل (مثلث توخالی) و رشد PHE025 سویه مارینوباکتر .sp در محیط ASW با فنل به عنوان تنها منبع کربن و انرژی اضافه شده (دایره توخالی). رشد در همان محیط بدون اضافه کردن فنل (دایره توپر) و غلظت فنل در آزمایش کنترل در محیط ASW به علاوه فنل بدون تلقیح باکتریایی (مثلث توپر) آنالیز شد.

در کل، مزیت هالوموناس و مارینوباکتر در محلول فوق اشباع نمک، این است که راکتور تجزیه کننده فنل با ماهیت نمک دوستی این باکتری با گزارشهای قبلی تجزیه ترکیبات آروماتیک توسط گونه‌ای از هر دو نوع (مونوز و همکاران 2001؛ نیکلسون و فاتپور 2004؛ گارسیا و همکاران 2004) و توسط باکتری نمک دوست در کل (گارسیا و همکاران 2005) به خوبی سازگاری دارد. اگرچه گزارشهای قبلی این محققان، ظرفیت سویه‌های هالوموناس گرفته شده از پسابهی نمکی صنعتی را برای رشد بر روی فنل به عنوان تنها منبع کربن و انرژی (هینترگر و استرایخسبیر 1997) توضیح داده است، اما نتایج ما نشان می‌دهند که مارینوباکتر عامل مهمی در تجزیه فنل در محلول نمک فوق اشباع، که در اینجا پساب حاصل از راکتور صنعتی حاوی فنل است، می‌باشد. علاوه بر این، سویه‌های مارینوباکتر با ظرفیت رشد بر روی ترکیبات آروماتیک (ترکیبات BTEX)، گزارش شده‌اند (برلندیس و همکاران 2010)، با توجه به دانسته‌های ما، این اولین گزارش در مورد واحدهای مارینوباکتر است که توانایی رشد بر روی فنل به عنوان تنها منبع کربن و انرژی را داراست.

نتایج ما نشان می‌دهند که حذف فنل در MBRهای مورد مطالعه به تنوع کم اجتماع میکروبی مربوط است. تشخیص میکروبیولوژی، جداسازی در محیط کشت خالص و حفظ عوامل اصلی حذف فنل در محلول با میزان بالای نمک، احتمال ایجاد تلقیحهای فرموله شده برای کاهش دوره‌های راه اندازی کارخانجات عملیات بر روی پساب صنعتی را افزایش می‌دهد.

4. نتایج

فنل موجود در یک پساب صنعتی با نمک فوق اشباع ($8-15mg\ L^{-1}$)به وسیله دو راکتور غشای بیولوژیکی (MBR)به طور موثری حذف شد و زمانهای بقای هیدرولیک کم (بیش از 0/5 روز) و انعطاف پذیری بالای عمل را در پی داشت.تعدادی از سویه‌های مارینوباکتر و هالوموناس به عنوان اجزای اصلی جمعیتهای باکتریایی در MBRهای تست شده شناخته شده‌اند. چندین سویه مارینوباکتر .sp قادر به رشد با فنل، به عنوان تنها منبع کربن، از راکتورها جدا شده و به عنوان محیطهای کشت خالص حفظ شدند.

تجزیه فنل وابسته به رشد توسط واحد مربوطه، سویه PHE025 مارینوباکتر .sp به وسیله بررسی افزایش تعداد سلولهای مربوط به حذف فنل اثبات شد.

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

این مقاله، از سری مقالات ترجمه شده رایگان سایت ترجمه فا میباشد که با فرمت PDF در اختیار شما عزیزان قرار گرفته است. در صورت تمایل میتوانید با کلیک بر روی دکمه های زیر از سایر مقالات نیز استفاده نمایید:

✔ لیست مقالات ترجمه شده

✔ لیست مقالات ترجمه شده رایگان

✔ لیست جدیدترین مقالات انگلیسی ISI

سایت ترجمه فا ؛ مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده از نشریات معتبر خارجی