

# بررسی مشاهدات میکروسکوپی در فرایند نیترات و ازت سازی در سیستم‌های بستر بیوفیلمی متحرک (MBBR)

سیما جنود (دانشجوی کارشناسی ارشد)  
منوچهر وثوقی (استاد)  
دانشکده‌ی مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه صنعتی شریف

روش‌های زیست‌شناختی حذف نیتروژن از فاضلاب که عمدتاً به شکل آمونیاک است، از متداول‌ترین روش‌ها هستند. طی فرایند نیترات‌سازی و در شرایط هوازی، آمونیاک تبدیل به نیترات می‌شود. طی فرایند ازت‌سازی و در شرایط بی‌هوازی، نیترات، اکسیژن خود را از دست داده و به صورت نیتروژن گازی در می‌آید یا به شکل توده‌ی زیستی از سیستم خارج می‌شود. عمده‌ترین نوع باکتری‌های آمونیاک‌زدا، نیتروزوموناس‌ها و نیتروباکترها هستند که در دو مرحله عمل نیترات‌سازی را انجام می‌دهند. ریزاندامگانی که عمل ازت‌سازی را انجام می‌دهند، از تنوع بیشتری برخوردارند. در تحقیق انجام شده در دو راکتور هوازی و بی‌هوازی در بستر بیوفیلمی متحرک (MBBR)، فرایند نیترات و ازت‌سازی به صورت پیش‌ازت‌سازی<sup>۱</sup> مورد بررسی قرار گرفته است. حجم هر یک از راکتورها ۹ لیتر بوده و در سه زمان ماند ۱۴، ۲۰ و ۸ ساعت در غلظت‌های بالای COD (۱۰۰۰-۲۰۰۰ mg/lit) و آمونیاک (۷۰۰-۱۰۰۰ mg/lit) کار شده است.

عمده باکتری‌های مشاهده شده در سیستم، *Archchromatium* و *Beggiatoa* هستند و ریزاندامگان معلق و چسبیده از یک نوع‌اند. شناخت نوع باکتری‌ها و فرام آوردن شرایط بهینه برای آنها بازده فرایند نیترات و ازت‌سازی را افزوده و در صورت پرورش آنها در محیطی جداگانه می‌توان از محیط به دست آمده برای دانه‌بندی و کوتاه‌کردن مدت زمان راه‌اندازی و آمادگی سیستم و همچنین اصلاح ساختار زیست‌شناختی و در نتیجه افزایش بازده سیستم استفاده کرد.

## مقدمه

روش‌های زیست‌شناختی از مؤثرترین و عملی‌ترین روش‌های حذف آمونیاک از فاضلاب است که در حدود ۴۰٪ از کل ترکیبات نیتروژنی را حذف می‌کند. اکسایش زیستی آمونیاک منجر به تولید نیترات و نیتريت می‌شود، و نیترات و نیتريت در محیط بی‌هوازی توسط فرایند ازت‌سازی، احیا شده و گاز نیتروژن تولید می‌کنند.<sup>[۱]</sup> فرایند نیترات‌سازی در قرن گذشته به‌طور وسیعی توسط دانشمندان مورد مطالعه و تحقیق قرار گرفته است و معلوم شده که در مراحل تصفیه‌ی فاضلاب، نیترات‌سازی به‌طور طبیعی اتفاق می‌افتد. تا سال ۱۹۳۰ واحدهای تصفیه‌ی فاضلاب با هدف انجام نیترات‌سازی طراحی می‌شدند، ولی به‌علت هزینه‌ی بالای سرمایه‌گذاری در این مرحله، و نیز چون در مخازن ته‌نشینی فرایند ازت‌سازی رخ می‌داد و باعث بالا آمدن لجن می‌شد، طی سال‌های ۱۹۴۰ تا ۱۹۶۰، طراحان تصفیه‌خانه‌ها مطالعات خود را بر کنترل پدیده‌ی نیترات‌سازی متمرکز کردند تا این عمل در واحدهای تصفیه‌خانه انجام نشود. در نهایت آنان متوجه شدند که نیترات‌سازی

توسط ریزاندامگانی صورت می‌گیرد که تعداد آنها در فاضلاب کم است و اکسایش آمونیاک به نیترات، اکسیژن محلول را به شکلی تبدیل می‌کند که در شرایط بی‌هوازی مورد استفاده قرار می‌گیرد.<sup>[۱]</sup> نیتروزوموناس و نیتروباکترها مهم‌ترین ریزاندامگان مسئول نیترات‌سازی هستند. نیتروزوموناس‌ها میله‌ی شکل، متحرک، بدون هاگ و هوازی مطلق‌اند و بهترین رشد آنها در دماهای ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد است. نیتروباکترها نیز فاقد هاگ، غیر متحرک، میله‌ی و هوازی مطلق‌اند.<sup>[۳]</sup>

هر دو گروه خودپرور<sup>۲</sup> هستند و انرژی مورد نیاز خود را از اکسایش آمونیاک و نیتريت به دست می‌آورند. نیترات‌سازها، کربن از نوع CO<sub>2</sub> را به‌عنوان منبع کربن مصرف می‌کنند و میزان تولید زیست توده‌ی<sup>۳</sup> نیترات‌ساز بر واحد سوبسترای حذف شده، در مقایسه با دگرپرور<sup>۴</sup>ها خیلی پایین است.<sup>[۱]</sup>

توانایی نیتروزوموناس در اکسایش آمونیاک به نیتريت، و قابلیت نیتروباکتر در اکسایش نیتريت به نیترات است. نیتروباکتر علاوه بر CO<sub>2</sub> قادر به استفاده از کربن آلی نیز هست.

افزایش سطح مفید برای چسبیدن بیوفیلم و در نتیجه افزایش SRT نسبت به HRT می شود. این عامل باعث می شود زمان ماند باکتری ها زیاد شود و در نتیجه باکتری های نیترات ساز که در مقابل دگر پرورها ضعیف ترند فرصت فعالیت بیابند.

از مزایای عمده سیستم MBBR می توان به SRT بالا، بازدهی بالای حذف، تولید لجن کم، نیاز به فضای کم، قابلیت بالای تحمل تغییرات بار آلی، هیدرولیکی، pH و دما، عدم نیاز به لجن برگشتی و شست و شوی عکس (مانند آنچه در سیستم های بستر ثابت با آن روبه رویم) و همچنین کاربری آسان اشاره کرد.

در تحقیق حاضر، در دو سیستم MBBR (بستر بیوفیلمی متحرک) بی هوازی و هوازی به صورت پیش ازت سازی، در سه زمان مانند ۲۰، ۱۴ و ۸ ساعت فرایند نیترات و ازت سازی برای فاضلاب های با غلظت بالای آمونیاک و COD انجام داده است. و ریزاندامگان موجود در این دو فرایند مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته اند. این بررسی ها از این نظر مفید است که با شناسایی و پرورش ریزاندامگان نیترات و ازت سازی و استفاده از روش دانش بندی، در طول دوره راه اندازی می توان به بازده بالاتری دست یافت و طول دوره راه اندازی را کوتاه کرد.<sup>[۸]</sup>

### مواد و روش ها

در دو راکتور سری MBBR مورد استفاده در این تحقیق، فرایند نیترات سازی در راکتور هوازی (دومین راکتور) انجام شده است و نیترات تولید شده با جریان بازگشتی تأمین شده توسط پمپ که ذبی آن چهار برابر ذبی ورودی است وارد سیستم بی هوازی (اولین راکتور) شده و تحت شرایط بی اکسیژنی<sup>۷</sup> عمل ازت سازی انجام می شود. علت انتخاب این شکل قراردی راکتورها، کاهش COD ورودی به مرحله نیترات سازی و ایجاد زمینه مناسب برای نیترات سازها به منظور رقابت با باکتری های مصرف کننده COD و همچنین بی نیازی از افزودن منبع کربن اضافی برای فرایند ازت سازی است.<sup>[۹]</sup> بسترهای استفاده شده در این دو راکتور از نوع لوله خرطومی های بریده شده از جنس پلی اتیلن به قطر ۱/۲۵ سانتی متر و طول ۱/۳ سانتی متر است و با استفاده از حدود ۶۰٪ از حجم هریک از راکتورها، سطح ویژه بی معادل  $\frac{192 m^2}{m^3}$  را تأمین می کند.

همان طور که در شکل ۱ دیده می شود، راکتور بی هوازی کاملاً آب بندی شده و بیوگاز خروجی وارد یک قفل آبی با سطح بالاتر از سطح راکتور می شود تا مانع ورود هوا به سیستم بی هوازی شود.

تحقیقات انجام شده توسط پژوهشگران بیانگر حساسیت نیتروباکتر به عوامل محیطی، مانند کاهش دما، اکسیژن حلال<sup>۵</sup>، غلظت سوبسترا، فلزات سنگین، آمونیاک آزاد، اسید نیتروز و مواد سمی است<sup>[۵]</sup> به طوری که در مقایسه با نیتروباکتر، نیتروزوموناس از حساسیت کم تری برخوردار است.

نیترات سازها، سرعت رشد سلولی پایینی دارند، ولی مصرف اکسیژن آنها بالاست. رشد سلول و اکسایش آمونیاک همزمان است، و لذا میزان تولید لجن کم است و در سیستم های معلق نیاز به زمان ماند بالا برای نیترات سازی کامل داریم.

نیتروزوموناسها انواع مختلفی دارند، مانند *N.europaea* و *N.Oligocarbogenes*، و در طی تبدیل آمونیاک به نیتريت محصول جانبی  $NH_4OH$ ، ممکن است هیدروکسیل آمین نیز در سیستم به وجود آید. سایر اکساینده های آمونیاک عبارت اند از: نیتروسوسپیرا، نیتروسولوبوس، نیتروسوکوکوس و نیتروسوریربو.<sup>[۶]</sup>

فرایند ازت سازی که به صورت ناهماتند سازی<sup>۶</sup>، یا اصطلاحاً تنفس بی هوازی، انجام می شود توسط باکتری هایی از نوع ارگانوتروفها، لیتوتروفها و گروه های Taxonomic که می توانند از انواع مختلف منابع انرژی استفاده کنند (ترکیبات آلی و غیر آلی) انجام می شود. این ریزاندامگان به گروه های زیر تعلق دارند:

پسودوموناس، باسیلوس، اسپریلیوم، هیسپومیکروبیوم، آگروباکتریوم، اسپنتوباکتر، میکروکوکوس آرکروموباکتر، پروبیونو باکتریوم، ریزوبیوم، کورینه باکتر، آلکالیگنز، تیوباسیلوس و پاراکوکوس.

پسودوموناس ها عبارت اند از: *P.denitrificans*, *P.aeruginosa*, *P.fluorecens* که تمام آنها از طریق واکنش های تولید انرژی، نیترات را احیاء می کنند که در آن نیترات یا نیتريت جایگزین اکسیژن می شود. باکتری های ازت ساز، دگر پرور و اختیاری اند.<sup>[۷]</sup>

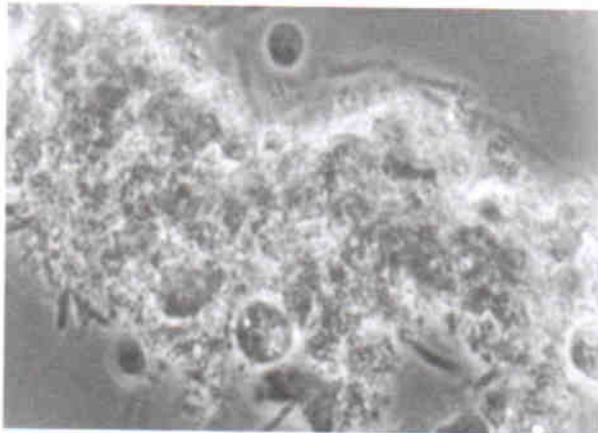
از آنجا که ازت سازی یک واکنش چند مرحله ای است، به زمان بستگی زیادی دارد. همچنین در این فرایند، اگر منبع هیدروژنی کم باشد ممکن است مقادیر قابل ملاحظه ای نیتريت در سیستم ایجاد شود.  $H_2N_2O_2$  که محصول جانبی فرایند ازت سازی است، ترکیبی ناپایدار است و به خصوص در دماهای بالا سریعاً تبدیل به  $N_2O$  گازی می شود.  $N_2O$  حاصل به صورت گاز از سیستم خارج می شود، و یا به صورت محلول در فاضلاب می ماند.

راکتور MBBR، یک راکتور جدید بیوفیلمی است که حرکت اجزاء در نوع هوازی آن با هوادهی، و در نوع بی هوازی آن با همزن انجام می شود. حرکت آزادانه اجزاء در سیستم MBBR، باعث

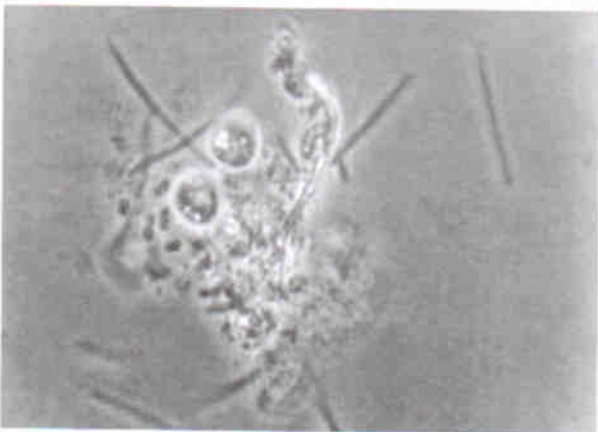
### نتایج و بحث

شکل های ۲، ۳ و ۴ تصاویر نمونه های زنده ی فاضلاب هوازی (نیتریفیکاسیون) را نشان می دهد. در شکل ۲، عمده باکتری های موجود از نوع Archromatium هستند که باکتری های میله یی با قطر بین ۱۵-۱۰ $\mu\text{m}$  بوده و جزو باکتری های نیترات ساز محسوب می شوند. سایر باکتری های غالب در اطراف زیست توده ی موجود در این عکس از نوع Beggiatoa با قطر ۵۵/۲ $\mu\text{m}$  هستند. این باکتری ها شبیه قارچ ها بوده و درازای معینی ندارند.

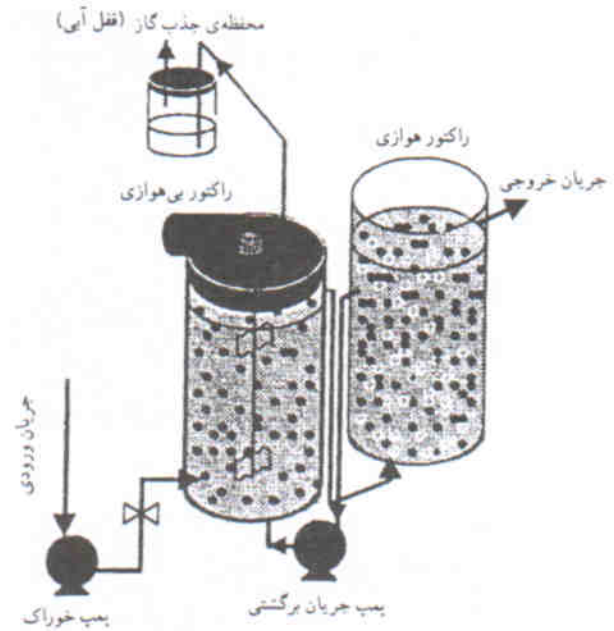
در شکل ۳ نیز باکتری های Archromatium و Beggiatoa به طور بارز مشاهده می شوند و علاوه بر آنها باسیل ها و همچنین نوع دیگری از باکتری ها به نام Nocardia دیده می شود.<sup>[۱۰]</sup> در شکل ۴، یک نوع ریزاندامگان که احتمالاً از نوع ماکروموناس با قطر ۳۰-۱۵ $\mu\text{m}$  است، مشاهده می شود. این ریزاندامگان از دسته باکتری ها بوده ولی شبیه پروتوزواست. حرکت کند و تغییر شکل در هنگام حرکت از خصوصیات این ریزاندامگان است.



شکل ۲. میکروفوتوگرافی از نمونه ی زنده ی هوازی (نیترات سازی).



شکل ۳. میکروفوتوگرافی از نمونه ی زنده ی هوازی (نیترات سازی).



شکل ۱. دو سیستم بی هوازی و هوازی MBBR.

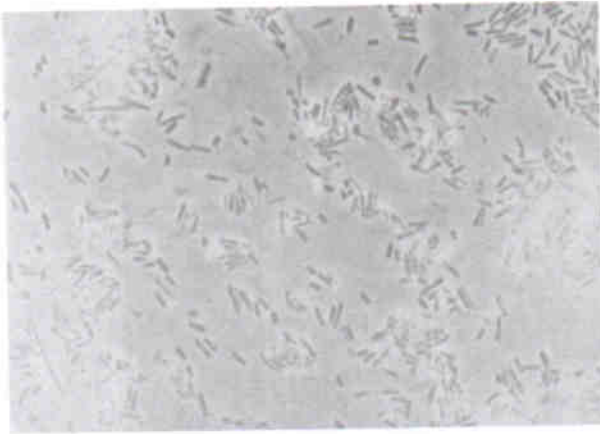
توسط میکروسکوپی با عدسی ۱۰۰، از نمونه های معلق و چسبیده عکس برداری شده است. برای عکس برداری از نمونه های تثبیت شده، آنها را خشک و رنگ آمیزی می کنند.

ترکیب فاضلاب ورودی به سیستم مصنوعی بوده و حاوی مقادیر بالای COD و آمونیاک است. COD فاضلاب با ملاس، و آمونیاک با کلرید آمونیوم و بی کربنات آمونیوم تأمین می شود. مقدار فسفر ورودی به سیستم، که با نیترژن تنظیم می شود، از  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  تأمین می شود. علت انتخاب  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  و  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  تنظیم pH سیستم است که طی فرایند نیترات سازی شدیداً کاهش می یابد.

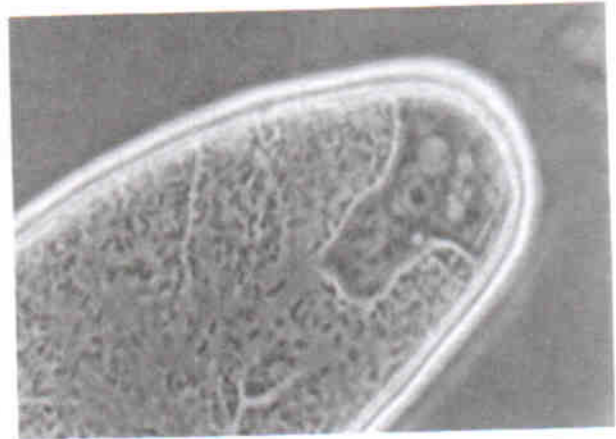
کم خوراک های<sup>۸</sup> ورودی به سیستم با ترکیبات  $\text{FeCl}_3$ ،  $\text{CuSO}_4$ ،  $\text{NaCl}$  و  $\text{MgSO}_4$  تأمین شده است. خصوصیات فاضلاب ورودی به سیستم در طول دوره ی کارکرد پیوسته در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. خصوصیات خوراک ورودی به سیستم در طول دوره ی کارکرد پیوسته.

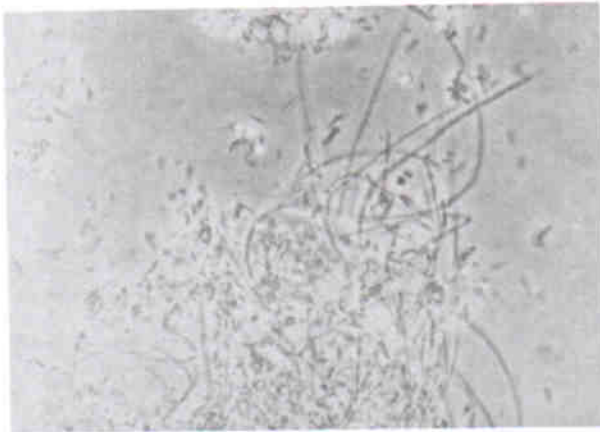
نوع ماده	محدوده ی غلظت (لیتر/میلی گرم)
$\text{NH}_4$	۷۰۰-۱۰۰
COD	۲۰۰۰-۱۰۰۰
$\text{NO}_3$	۱۰-۰
$\text{FeCl}_3$	۴/۰
$\text{MgSO}_4$	۳
$\text{CuSO}_4$	۲
$\text{NaCl}$	۷/۰



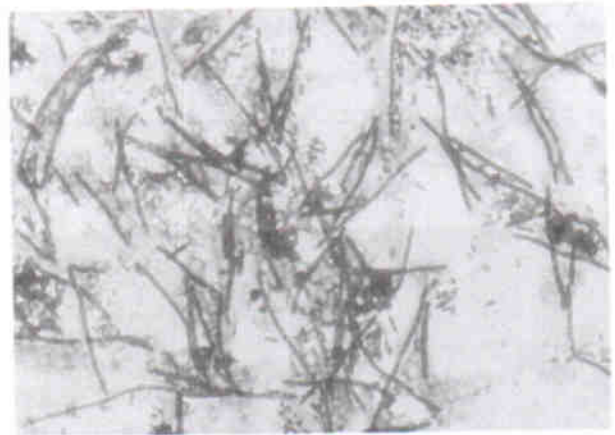
شکل ۷. میکروفوتوگرافی از نمونه‌ی زنده‌ی بی‌هوازی (دی نیترات سازی).



شکل ۴. میکروفوتوگرافی از نمونه‌ی زنده‌ی هوازی (نیترات سازی).



شکل ۸. میکروفوتوگرافی از نمونه‌ی زنده‌ی بی‌هوازی (دی نیترات سازی).



شکل ۵. میکروفوتوگرافی از نمونه‌ی خشک و تثبیت‌شده‌ی هوازی.



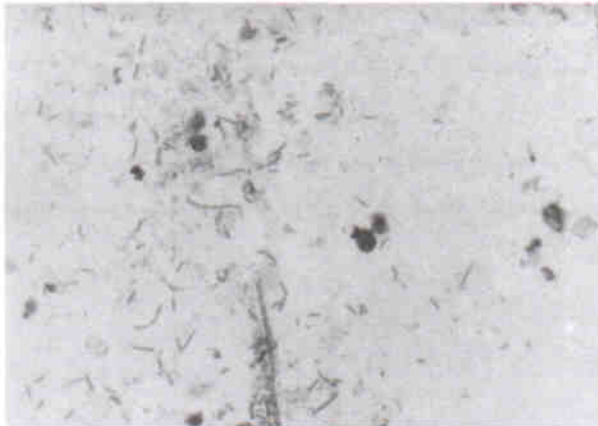
شکل ۹. میکروفوتوگرافی از نمونه‌ی خشک شده و تثبیت‌شده‌ی بی‌هوازی.



شکل ۶. میکروفوتوگرافی از نمونه‌ی خشک و تثبیت‌شده‌ی هوازی.

شکل‌های ۷ و ۸ عکس‌های نمونه‌ی زنده‌ی بی‌هوازی‌اند. در شکل ۷، باسیل‌ها بر سایر ریزاندامگان غالب‌اند و در شکل ۸ علاوه بر باسیل‌ها، باکتری‌های رشته‌یی شناور (بالکینگ)<sup>۹</sup> ایجاد کننده‌ی بی که به تعداد بسیار کم مشاهده شده‌اند دیده می‌شود. در شکل‌های تثبیت شده باسیل‌ها، اسپیریلیوم، و *Beggiatoa* و کوکسی‌ها دیده می‌شود.

نمونه‌های تثبیت‌شده‌ی هوازی در شکل‌های ۵ و ۶ دیده می‌شود. در شکل ۵ و ۶ نیز باکتری‌های *Beggiatoa*، باسیل‌ها و کوکوس‌ها، عمده ریزاندامگان مشاهده شده‌اند. سایر ریزاندامگان مشاهده شده در راکتور هوازی عبارت‌اند از: اوسیلاتوریا، اسپیریلیوم، و پسودوموناس.<sup>۱۰ و ۱۱</sup>



شکل ۱۳. میکروفوتوگرافی از بیوفیلم بی‌هوای.



شکل ۱۰. میکروفوتوگرافی از نمونه‌ی خشک‌شده و تثبیت‌شده‌ی بی‌هوای.



شکل ۱۴. میکروفوتوگرافی از بیوفیلم بی‌هوای.



شکل ۱۱. میکروفوتوگرافی از بیوفیلم هوای.

یکسان بودن ریزاندامگان معلق و چسبیده در هر دو سیستم است، به‌ویژه حضور باسیل‌ها، اسپریلیوم، *Beggiatoa* و کوکسی‌ها که در هر دو نوع بیوفیلم بارز است.

### نتیجه‌گیری

بررسی ریزاندامگان غالب در سیستم نیترات‌سازی و نیترات‌زدایی می‌تواند ما را در شناخت موجودات زنده‌ی فعال در این دو فرایند - که زمینه‌ی استفاده از نوع پرورش‌یافته‌ی این ریزاندامگان را برای دانه‌بندی فراهم می‌کند - یاری دهد.

نتایج حاصل از بررسی ریزاندامگان این سیستم نشان می‌دهد که، ریزاندامگان موجود در زیست‌توده‌ی چسبیده و معلق مشابه یکدیگرند، و قطر بیوفیلم چسبیده روی اجزاء در سیستم هوایی نسبت به بیوفیلم بی‌هوایی بیشتر است. با این تفاوت که بیوفیلم بی‌هوایی از چگالی بیشتری برخوردار است. با توجه به مزایای ذکر شده برای سیستم MBBR و بازده مناسب به دست آمده برای این



شکل ۱۲. میکروفوتوگرافی از بیوفیلم هوای.

سایر ریزاندامگان معلق در سیستم بی‌هوایی عبارت‌اند از: *Streptobacterium*، *Archromatium* و حضور برخی از ریزاندامگان در سیستم هوایی یا بی‌هوایی، به علت ارتباط بین دو سیستم و انتقال ریزاندامگان است.<sup>[۲]</sup> عکس‌برداری از بیوفیلم‌های هوایی و بی‌هوایی، نشان‌دهنده‌ی

همچنین با جداسازی و پرورش ریزاندامگان نیترات ساز و نیترات زدا در شرایط مناسب، نوعی اصلاح شده و مقاوم از این ریزاندامگان را وارد سیستم می‌کنیم، به نحوی که از تولید مثل این موجودات، ریزاندامگان غالب نیترات ساز و نیترات زدا در دو سیستم تکثیر می‌شوند و فرایند را بهبود می‌بخشند.

سیستم (۱۰۰-۸۰٪ حذف COD، ۸۰-۳۰٪ حذف آمونیاک و ۹۰-۴۰٪ حذف نیترات)، یکی از معدود مشکلات سیستم، زمان راه اندازی طولانی است. دانه بندی، زمان راه اندازی را که در سیستم MBBR نسبتاً طولانی است، به خصوص در راکتور بی‌هوای بسیار کوتاه خواهد کرد.

#### پانوش

1. Pre-denitrification
2. Autotroph
3. biomass
4. hetrotroph
5. Dissolved Oxygen
6. Dissimilation
7. Anoxic
8. micronutrient
9. Bulking

#### منابع

1. Metcalf and Eddy, "Wastewater engineering", Mc Graw Hill International Edition, 2nd Edn. (1991).
2. Yang, P.Y. et al "Nitrification and denitification in wastewater treatment system", Traditional Technology for Environmental Conservation and Sustainable Development in Asia-Pacific Region, pp 145-157 (1995).
3. Saahebdel far, S., "Kinetic of nitrification and denitrification reactions" Advanced Biochemical Engineering Seminar, Sharif University of Technology (1990).
4. McGhee, M.F., "Fundamental studies of the nitrification proces", ph.D Thesis, University of Kansas (1975).
5. Anthonisen, A., "Inhibition by ammonia nitrous acid", *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, 4, pp 825-835 (1976).
6. Arceivals, S.J., "Wastewater treatment for pollution control", McGraw Hill International Edition (1988).
7. Halling, B. et al, "Removal of nitrogen compounds from wastewater", Elsevier Publishers Amsterdam (1993).
8. Plaza, E. et al, "Impact of seeding with nitrifying bacteria on nitrification process efficiency"; *Wat. Sci. Tech.*, 43(1), pp 155-164 (2001).
9. Rusten, B. et al, "Nitrification at municipal wastewater in MBBRs", *Wat. Env. Res.*, 67(1), pp 65-74 (1995).
10. hanel, K., "Biological treatment of sewage by the activated sludge process", ELLIS HORWOOD LIMITED, 1st Edn. (1988).
11. Bitton, G., "Wastewater microbiology", Wiley-less Publication, 2nd Edn. (1999).