

## تشکیل گرانول هوازی در راکتور ناپیوسته متوالی (SBR) برای تصفیه فاضلاب شور

انسبه طاهری<sup>۱</sup>، مهدی حاجیان نژاد<sup>۲</sup>، محمد مهدی امین<sup>۳</sup>، حسین فرخ زاده<sup>۴</sup>، مریم حاتم زاده<sup>۵</sup>، مرضیه وحید دستجردی<sup>۶</sup>

نویسنده مسئول: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، مرکز تحقیقات محیط زیست [amin@hlth.mui.ac.ir](mailto:amin@hlth.mui.ac.ir)

پذیرش: ۹۰/۰۹/۰۹

دریافت: ۹۰/۰۶/۲۶

### چکیده

**زمینه و هدف:** گرانولاسیون هوازی لجن، به عنوان فرایندی پیشرفته با مکانیسم ناشناخته، قادر است به یکی از تکنولوژی‌های آتی تصفیه بیولوژیکی فاضلاب تبدیل شود. پارامتری مانند شوری بالا سبب پلاسمولیز و کاهش فعالیت سلول‌ها شده و باعث مشکل شدن تصفیه بیولوژیکی فاضلاب شور می‌شود. هدف از انجام این مطالعه بررسی مشخصات گرانول‌های هوازی تشکیل شده در راکتور SBR تصفیه‌کننده فاضلاب شور است. روش بررسی: این مطالعه مداخله‌ای بر روی تصفیه فاضلاب حاوی  $10 \text{ g/L}$  -  $0/5$  کلرید سدیم در راکتورهای پر و خالی شونده متوالی انجام شده است. فاضلاب به کار رفته سنتزی و حاوی مواد مورد نیاز رشد میکروارگانیسم‌ها بود.  $\text{pH}$  ورودی در محدوده ۸-۷ و اکسیژن محلول بین  $2-5 \text{ mg/L}$  تنظیم گردید. جهت تعیین مشخصات گرانول‌ها از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده شد. از آنالیز EDX جهت تعیین ترکیبات موجود در گرانول‌ها استفاده گردید.

**یافته‌ها:** گرانول‌های ایجاد شده با مشخصات متفاوت بوده و از نظر رنگ ظاهری دو دسته بودند: گرانول‌هایی به رنگ قهوه‌ای روشن و گرانول‌هایی به رنگ سیاه. اندازه گرانول‌ها در محدوده  $3-7 \text{ mm}$  با سرعت سقوط  $1/35 \text{ cm/s}$  -  $0/9$  و دانسیته  $60 \text{ g/L}$  و  $32$  بود. در تصاویر SEM مشخص شد که در برخی گرانول‌ها باکتری‌های رشته‌ای و قارچ‌ها، و در برخی دیگر باکتری‌های غیر رشته‌ای غالب بودند. هم‌چنین در آنالیز EDX انجام شده حضور مواد معدنی نظیر کلسیم و فسفات تعیین شد.

**نتیجه‌گیری:** گرانول‌های دارای جمعیت باکتریایی غیر رشته‌ای غالب، دارای فشردگی و سرعت ته‌نشینی بالاتری هستند. حضور غلظت‌های مختلف شوری سبب پلاسمولیز سلول‌های باکتریایی و افزایش غلظت ترکیبات EPS در سیستم و تسریع گرانولاسیون می‌گردد.

**واژگان کلیدی:** گرانول‌های بیولوژیکی هوازی، تصفیه فاضلاب شور، راکتور منقطع متوالی

- ۱- کارشناس ارشد بهداشت محیط، مرکز تحقیقات محیط زیست و دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
- ۲- دکترای بهداشت محیط، دانشیار مرکز تحقیقات محیط زیست و دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
- ۳- دکترای بهداشت محیط، دانشیار مرکز تحقیقات محیط زیست و دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
- ۴- کارشناس ارشد بهداشت محیط، مرکز تحقیقات محیط زیست و دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
- ۵- کارشناس میکروبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
- ۶- کارشناس ارشد بهداشت محیط، مرکز تحقیقات محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

## مقدمه

بیولوژیکی مشکلی دارند(۱۲). شوری بالا سبب پلاسمولیز و کاهش فعالیت سلول ها می شود(۱۳). در ایران مطالعه ای در سال ۲۰۱۰، با عنوان حذف فتل از فاضلاب شور توسط راکتور ناپیوسته متوالی گرانوله، انجام شد Granular Sequencing Batch Reactor (GSBR) که در آن از گرانول های هوازی با اندازه متوسط ۲ mm برای تصفیه فاضلاب استفاده شد(۱۱).

در مطالعه ای که توسط Li در سال ۲۰۰۹ بر روی تصفیه فاضلاب های شور توسط SBR انجام شده است، مشاهده گردیده که سه نوع مختلف از گرانول های بیولوژیکی از لحاظ رنگ تشکیل شده که گرانول های غیر باکتریایی دارای فشردگی بیشتر و تخلخل کمتر نسبت به گرانول های باکتریایی بوده است(۱۴). در مطالعه ای دیگر در سال ۲۰۰۹، اثر زمان ته نشینی بر فرایند گرانولاسیون در ۳ راکتور SBR بررسی شد و در نهایت مشاهده گردید که زمان ماند کوتاه تر باعث افزایش فرایند گرانولاسیون می شود(۱۵). در مطالعه Cassidy و همکارانش که با هدف بررسی حذف نیتروژن و فسفر توسط گرانول های بیولوژیکی در راکتور SBR انجام شد مشاهده شد که میزان حذف COD و فسفر (P) بالای ۹۸٪ و میزان حذف نیتروژن Volatile Suspended (VSS) و جامدات معلق فرار (N) Solids بالای ۹۷٪ است (۱۶). از دیگر یافته های مرتبط با تشکیل گرانول هوازی اثر بیومس اولیه است که مشخصات آن در شکل گیری گرانول موثر گزارش شده است(۶).

## مواد و روش ها

## راکتور SBR

در این مطالعه یک راکتور SBR از جنس پلکسی گلس و دارای مقطع مربعی به ابعاد ۱۶/۵ سانتی متر و ارتفاع کل ۳۵/۵ سانتی متر مورد استفاده قرار گرفت. حجم کاری راکتور ۵ لیتر، حجم تخلیه آن ۲/۵ لیتر، و ارتفاع آزاد راکتور ۱۲/۵ سانتی متر بود. هر سیکل کاری راکتور ۲۴ ساعت انتخاب گردید، شامل: زمان تخلیه ۱۰ دقیقه، زمان تزریق ۱۰ دقیقه، ته نشینی ۱ ساعت،

در مقایسه با فلوک های استفاده شده در فرایند لجن فعال متداول، گرانول های هوازی مزایایی دارند. از جمله این که در فرایند تشکیل گرانول، ساختار میکروبی فشردگی تشکیل می شود که دارای ته نشینی مناسب تر بوده و دارای قابلیت بالایی در تحمل شوک های وارده است(۳-۱). اعتقاد بر این است که گرانوله شدن هوازی می تواند به یک تکنولوژی نو در تصفیه فاضلاب تبدیل شود(۴ و ۵). از نقطه نظر مهندسی اقتصادی گرانولاسیون هوازی لجن، فرایند پیشرفته ای است که قادر است به یکی از تکنولوژی های آبی تصفیه بیولوژیکی فاضلاب، در تجزیه مواد آلی و در حذف مواد مغذی تبدیل شود. علی رغم سودمندی های ذکر شده برای گرانولاسیون هوازی، هنوز این مکانیسم ناشناخته است (۶). در مقایسه با میکروب ها، قارچ ها قادر به تغییر pH اطراف سلول خود بوده و در نتیجه pH پایین و مطلوب خود را ایجاد می کند. تحت شرایط خاصی قارچ ها می توانند در گرانول های هوازی غالب شوند. تفاوت گرانول های قارچی و میکروبی در مکانیسم تشکیل، شکل ساختار و چگونگی تصفیه بوده، نیازمند تحقیقات بیشتر است(۱). برخی مطالعات پارامترهای دیگری، مانند SRT را در تشکیل گرانول های بیولوژیکی بی تاثیر دانسته اند(۷). تکنولوژی گرانولاسیون بیولوژیکی طی دو دهه گذشته در تصفیه فاضلاب های قوی و سمی بسیار توسعه یافته است(۲ و ۸). در به هم پیوستن باکتری ها جهت تشکیل گرانول و پایداری آن ترکیبات مواد پلی مری خارج سلولی Extracellular polymeric substance (EPS) نقش مهمی دارد.

EPS خود ترکیبی است از پلی ساکارید (polysaccharides) اسید نوکلئید و لیپید (۹). این تکنولوژی نوین خصوصاً در سیستم های تصفیه فاضلاب (SBR) sequencing batch reactor گزارش شده است (۱۰). یکی از پارامترهایی که قادر است به طور موثری از تصفیه هوازی و بی هوازی فاضلاب ها جلوگیری کند، شوری است(۱۱). فاضلاب های دارای شوری بالا، به دلیل اثر زیان بار شوری بر میکروارگانیسم ها، تصفیه

بعد از شست و شو توسط بافر فسفات با استفاده از نیتروژن مایع فریز شده و در صورت نیاز برش داده شد و برای آبگیری در سری اتانول ۳۰٪، ۵۰٪، ۷۰٪ و ۱۰۰٪ قرار گرفته (۲۰) و بعد از قرار گرفتن در دستگاه پوشش دهنده طلا به روش کندوپاش، توسط دستگاه EMTTECH، ساخت کشور انگلستان، برای عکس برداری آماده شد. دستگاه SEM به کار رفته مجهز به آنالیز اشعه X (energy dispersive x-ray detection) (EDX)، جهت تعیین ترکیب نمونه بود.

برای محاسبه دانسیته گرانول‌های بیولوژیکی تشکیل شده ابتدا تعدادی از گرانول‌ها درون صافی کارتریج قرار داده شد تا آبگیری شود. سپس گرانول‌ها در استوانه مدرج محتوی آب مقطر دوبار تقطیر قرار گرفته و حجم آن تعیین گردید. در مرحله بعد نمونه به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $10.5^{\circ}\text{C}$  قرار داده شد و پس از توزین، دانسیته نمونه گرانول محاسبه گردید. با قرار دادن نمونه فوق در دمای  $55.0^{\circ}\text{C}$  محتوی آلی گرانول‌ها به دست آمد (۱۷). جهت تعیین سرعت سقوط آزاد گرانول‌ها هم از استوانه مدرج حاوی آب مقطر دوبار تقطیر استفاده شد (۱۰).

#### یافته‌ها

بعد از گذشت ۱۱۰ روز از راهبری راکتور، پروسه تشکیل گرانول قهوه‌ای آغاز گردید که اندازه آنها بین ۳ تا ۷ میلی‌متر متغیر بود. با آغاز تشکیل این گرانول‌ها ته‌نشینی راکتور بهبود یافته و خروجی راکتور دارای کیفیت مطلوبی از نظر جامدات معلق و مواد آلی بود. مقدار اندازه‌گیری شده برای پارامتر TSS و SVI به ترتیب بین  $200-45 \text{ g/mL}$  و  $0.2-0.6 \text{ g/L}$  متغیر بود. در این مرحله مقدار SVI اندازه‌گیری شده در محدوده  $65-70 \text{ g/mL}$  بود.

همان‌گونه که در جدول ۱ مشخص شده است، گرانول‌های ایجاد شده از نظر رنگ ظاهری در دو دسته تقسیم می‌شوند: دسته اول که رنگ قهوه‌ای روشن داشته و دارای سطحی صاف‌تر

راکتور از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر بندرعباس که در زمان انجام مطالعه با فاضلاب ورودی با هدایت الکتریکی (EC) هدف از انجام این مطالعه بررسی مشخصات گرانول‌های هوازی تشکیل شده در راکتور SBR در مقیاس آزمایشگاهی به منظور تصفیه فاضلاب شور به صورت سنتتیک است. حدود  $9061 \mu\text{s/cm}$  و TDS برابر  $5265 \text{ mg/L}$  در حال راهبری بود، تهیه گردید و به راکتور افزوده شد.

#### سویستره سنتتیک

از گلوکز به عنوان منبع کربن و سویستره اصلی استفاده گردید. عناصر ضروری برای رشد میکروارگانیسم‌ها به مقدار لازم اضافه شد (۱۷). به منظور شبیه‌سازی نمونه فاضلاب صنعتی شور با قدرت آلودگی متوسط، سویستره با COD ورودی در محدوده غلظت  $1500-500 \text{ mg/L}$  و غلظت نمک در گستره  $10-5 \text{ g/L}$  تهیه و به راکتور تزریق گردید.


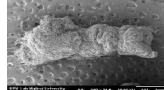
#### آزمایش‌ها

میزان pH و EC ورودی و خروجی راکتور به طور روتین در طول دوره راهبری راکتور اندازه‌گیری می‌شد. pH ورودی در محدوده ۷-۸ تنظیم گردید. میزان اکسیژن محلول (DO) راکتور در طول دوره راهبری همواره بین  $2-5 \text{ mg/L}$  تنظیم گردید. کلیه آزمایش‌ها از قبیل TSS، VSS، خروجی (MLVSS)، Mixed Liquor Volatile Suspended Solids (MLSS) و Mixed Liquor Suspended Solids Index (SVI) و نیز Solids Sludge Volume طبق روش‌های استاندارد انجام گردید (۱۸).

#### تعیین مشخصات گرانول‌های تشکیل شده

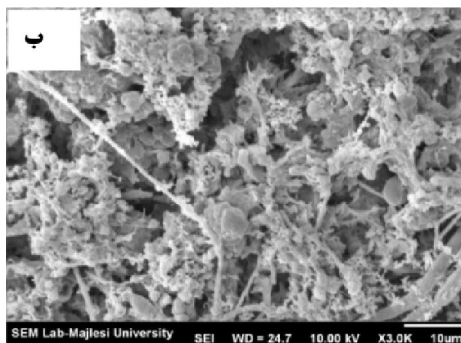
جهت تعیین مشخصات گرانول‌های تشکیل شده در راکتور از تصاویر تهیه شده توسط میکروسکوپ الکترونی نوع (Seron technology SEM ساخت کره جنوبی ۲۰۰۸) استفاده شد (۱۹). برای آماده‌سازی نمونه‌ها جهت عکس‌برداری ابتدا گرانول‌ها به مدت یک شب در گلو تار آلدید ۳٪ قرار گرفته و

جدول ۱: مشخصات گرانول‌های تشکیل شده در این مطالعه

تصویر گرانول‌های تشکیل شده	رنگ	دانسیته (g/mL)	سرعت سقوط (m/s)	وزن خشک (mg)	مواد آلی فرار (%)	خاکستر باقی مانده (%)
	قهوه ای	۰/۰۵۹۸	۰/۰۱۳۵	۰/۰۲۹۹	۸۳/۹۴	۱۶/۰۵
	سیاه	۰/۰۳۵۴	۰/۰۰۹۷	۰/۰۶۲۹	۷۹/۹۷	۲۰/۰۳

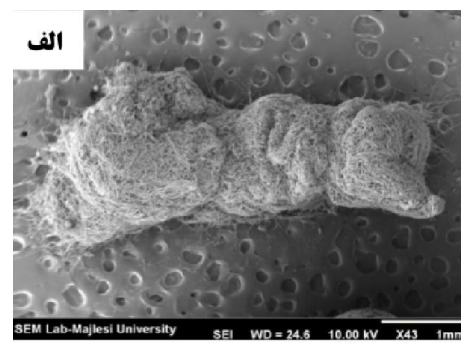
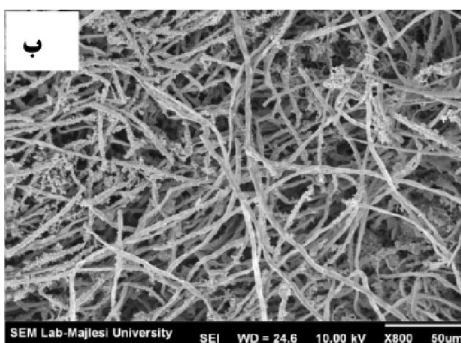
از باکتری‌های رشته‌ای و دیگر باکتری‌ها هستند. جمعیت غالب در این دسته، باکتری‌های غیر رشته‌ای و اغلب از نوع باکتری‌های کروی شکل بود. دسته دوم به فاصله یک هفته پس از تشکیل گرانول‌های دسته اول تشکیل شدند این دسته

بودند، با فشار انگشتان دست به راحتی شکستند و قبل از پیدایش دسته دوم در راکتور ظاهر شدند. این دسته دارای سرعت ته‌نشینی  $0.135 \text{ m/s}$  و دانسیته  $0.598 \text{ g/L}$  بودند. همان گونه که در شکل ۱ مشخص شده این دسته متشکل



شکل ۱: تصویر SEM گرانول‌های بیولوژیکی با غلبه باکتری‌های غیر رشته‌ای؛

الف) گرانول کامل، ب) سطح برش خورده گرانول (در این تصویر باکتری‌های کروی با آرایش سارسینا به وضوح قابل مشاهده اند)

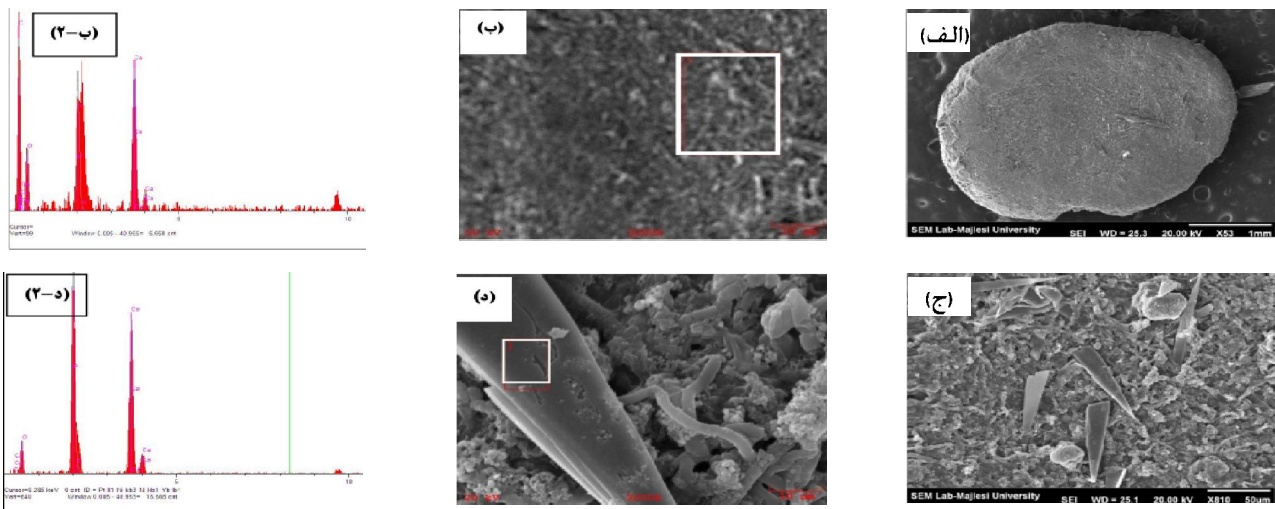


شکل ۲: تصویر SEM گرانول‌های بیولوژیکی با غلبه باکتری‌های رشته‌ای؛

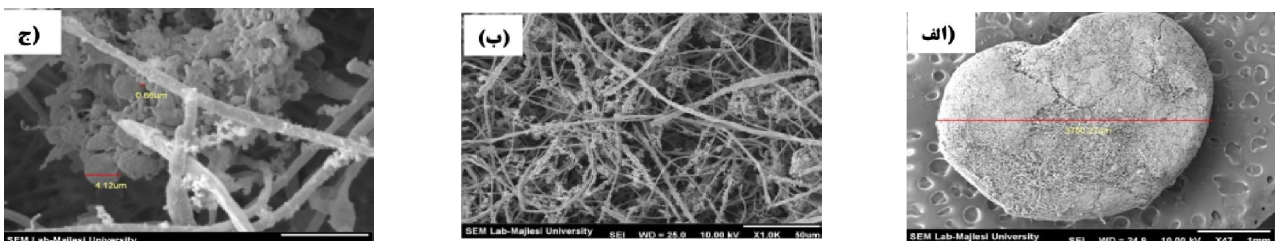
الف) گرانول کامل، ب) سطح برش خورده گرانول

اول خود برمی‌گردند. این دسته دارای سرعت ته‌نشینی  $0.097 \text{ m/s}$  و دانسیته  $0.315 \text{ g/L}$  هستند. همان گونه که در شکل ۲ هم نشان داده شده است، در این دسته از گرانول‌ها جمعیت غالب، باکتری‌های رشته‌ای است.

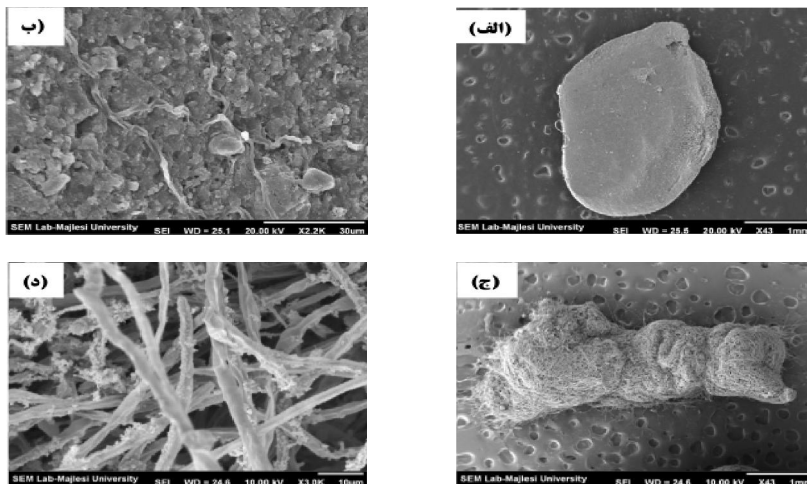
شکلی کاملاً ناصاف و پراکنده داشته و دارای اندازه‌ای بزرگ‌تر از گرانول‌های دسته اول هستند. با ظاهر شدن این دسته در راکتور، مقدار زیادی از لجن راکتور شروع به خارج شدن از راکتور نمود. گرانول‌های این دسته مقاوم بوده، با برداشتن فشار و قرارگیری مجدد در سیال، دوباره به حالت و شکل



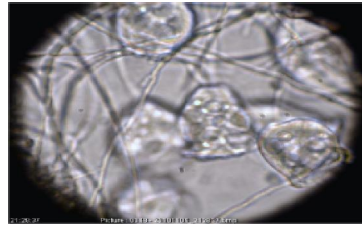
شکل ۳: حضور مواد معدنی در ساختار گرانول‌های بیولوژیکی؛ الف) گرانول کامل، ب) سطح برش خورده گرانول با بزرگ‌نمایی بالاتر (نقطه علامت‌گذاری شده، محل انجام آنالیز EDX)، ب-۲) آنالیز EDX شکل (ب)، ج) نمای نزدیک‌تر سطح برش خورده، د) نمای نزدیک سطح برش خورده گرانول (نقطه علامت‌گذاری شده، محل انجام آنالیز EDX)، د-۲) آنالیز EDX شکل (د). (تصاویر SEM)



شکل ۴: گرانول بیولوژیکی با پایه تشکیل شده از باکتری‌های رشته‌ای؛ الف) گرانول کامل، ب) سطح برش خورده گرانول، ج) نمای نزدیک‌تر سطح برش خورده گرانول. (تصاویر SEM)



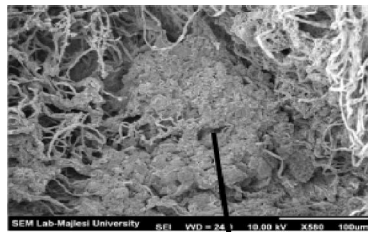
شکل ۵: مقایسه فشردگی باکتری‌های تشکیل‌دهنده گرانول بیولوژیکی؛ الف) سطح برش خورده گرانول بیولوژیکی با پایه‌ای از باکتری‌های رشته‌ای و غلبه باکتری‌های غیر رشته‌ای از نمای دورتر، ب) سطح برش خورده گرانول بیولوژیکی با پایه‌ای از باکتری‌های رشته‌ای و غلبه باکتری‌های غیر رشته‌ای از نمای نزدیک‌تر، ج) تصویر کامل گرانول بیولوژیکی متشکل از باکتری‌های رشته‌ای، د) تصویر گرانول بیولوژیکی متشکل از باکتری‌های رشته‌ای از نمای نزدیک‌تر. (تصاویر SEM)



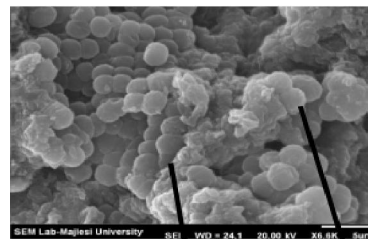
شکل ۶: حضور اجتماع هایی از سیلیاته های ساقه دار (ورتیسیلا) در راکتور (تصاویر تهیه شده توسط میکروسکوپ نوری)

(شکل ۴). علاوه بر آن مشاهده شد که گرانول ها دارای فشرده گی متفاوتی در ساختار خود هستند (شکل ۵). در طی مطالعه همواره نمونه هایی جهت مشاهده با میکروسکوپ نوری تهیه می شد که بررسی تصاویر تهیه شده به این روش (شکل ۶) حاکی از حضور دیگر جمعیت های میکروبی از جمله برخی پروتوزوئرها بود.

آنالیز EDX حاکی از حضور مقادیر بالای یون های کربن، کلسیم و فسفات در ساختار گرانول ها بود. این مطلب در شکل ۳ نمایش داده شده است. در این شکل که به ترتیب در بزرگ نمایی های مختلف تهیه شده اند طی دو مرحله از آنالیز EDX استفاده شد. در بررسی تصاویر SEM تهیه شده مشاهده شد که در برخی از گرانول ها باکتری های رشته ای ها و غیر رشته ای به طور هم زمان در یک گرانول حضور داشتند



ماتریس های EPS

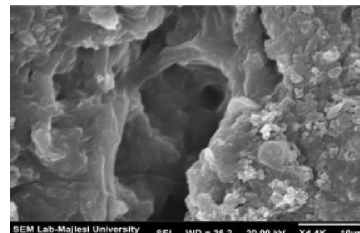
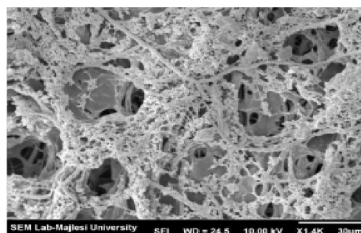


سلول باکتری  
پلی مر خارج سلولی

شکل ۷: وجود ترکیبات EPS در ساختار گرانول های بیولوژیکی (تصویر SEM)

ترکیبات EPS (شکل ۸) در ساختار آنست.

از جمله مشخصات گرانول های بیولوژیکی که توسط تصاویر تهیه شده قابل تشخیص بود حضور کانال ها (شکل ۷) و نیز



شکل ۸: وجود حفره در ساختار گرانول ها جهت تبادل مواد (تصویر SEM)

جدول ۲: مقایسه سرعت ته نشینی گرانول‌ها در چند مطالعه

نوع گرانول	نوع فاضلاب	COD mg/L	منبع کربن	دانسیته (g/mL)	سرعت ته نشینی m/h-1	منبع
گرانول هوازی	سنتزی	۶۳۰	گلوکز	-	۲۵/۲-۲۸/۸	(۲۲)
گرانول بی هوازی	سنتزی	۸۰۰۰	گلوکز	-	۳۰-۳۵	(۲۳)
فلوک لجن	سنتزی	۸۰۰۰	گلوکز	-	۱۰	(۲۳)
گرانول هوازی	-	-	-	۱/۰۴-۱/۰۵۴	۷۲	(۲۴)
گرانول هوازی	نساجی	۱۲۷۰	مواد آلی فاضلاب	-	۸۰±۸	(۱۰)
گرانول هوازی	سنتزی	۱۲۵۰	ساکارز و بیپتن	-	۱۸-۳۱	(۲۵)
گرانول هوازی	سنتزی	۸۳۰	اتانل	۰/۰۱۱۹	۲۴	(۱۷)
گرانول هوازی	سنتزی	۵۰۰-۱۵۰۰	گلوکز	۰/۰۳۵۴	۳۵	مطالعه حاضر
گرانول هوازی	سنتزی	۵۰۰-۱۵۰۰	گلوکز	۰/۰۵۹۸	۴۹	مطالعه حاضر

## بحث

گرانول‌های تشکیل شده در این مطالعه به رنگ‌های سیاه و قهوه‌ای روشن بودند و تنها منبع کربن در این مطالعه گلوکز بوده پس علی‌رغم گزارش‌های متعدد مبنی بر رابطه بین رنگ گرانول و منبع کربن (۳ و ۲۱)، این رابطه چندان محتمل نیست. از دیگر موارد تعیین‌کننده نوع گرانول‌ها را در برخی مطالعات قلیابیت دانسته‌اند (۱) در حالی که در این راکتور با وجود راهبری در میزان بدون تغییر قلیابیت انواع مختلف گرانول‌ها مشاهده شدند.

با توجه به این که pH ورودی در این مطالعه بین ۷-۸ کنترل می‌شد و pH خروجی نیز همواره بالای ۸ بود، پس دخیل بودن pH در نوع گرانول‌ها محتمل است (۱). وجود فشرده‌گی در ساختار گرانول‌ها سبب افزایش سرعت ته‌نشینی آنها می‌شود و همین فشرده‌گی و دانسیته بالا دلیل بالا بودن سرعت ته نشینی گرانول در مقایسه با فلوک‌های لجن است در جدول ۲ سرعت ته‌نشینی گرانول‌ها در چند مطالعه با هم مقایسه شده‌اند. در تشکیل گرانول‌های بیولوژیکی هوازی مکانیسم‌های مختلفی شرکت دارند که هر یک از این مکانیسم‌ها تحت شرایط ویژه‌ای عمل خواهد کرد.

## مکانیسم تشکیل گرانول‌های بیولوژیکی هوازی

### ۱- تشکیل گرانول بیولوژیکی با حضور مواد معدنی

در این دسته از گرانول‌ها ماده ای معدنی به عنوان یک هسته

عمل کرده که سبب تجمع باکتری‌ها شده و منجر به تشکیل توده بیولوژیکی می‌گردد. این دسته دارای دانسیته و سرعت ته‌نشینی بالاتری بوده (جدول ۱) و با تشکیل آنها شرایط ته‌نشینی ایده‌آل و کیفیت پساب خروجی مطلوب می‌گردد. این دسته سختی بیشتری نیز دارند. این دسته دارای برخی مواد معدنی است، همان‌طور که در شکل ۳ و در آنالیز اشعه EDX هم دیده می‌شود این مواد معدنی می‌تواند کلسیم و فسفر باشد (۵). کلسیم به دلیل دارا بودن بار مثبت با باکتری‌های دارای بار منفی و نیز ترکیبات پلی مری خارج سلولی باکتری‌ها باند شده و مشابه یک پل بین باکتری‌ها عمل می‌کند (۵) که همین امکان تشکیل گرانول‌ها را افزایش می‌دهد. در برخی مطالعات اشاره شده که فرم غالب ترکیب کلسیم در گرانول‌ها ترکیب کربناته آنست و فسفر نیز به فرم  $PO_4^{3-}$  است (۵ و ۲۶). هم چنین مشخص شده که برخی گونه‌های باکتری‌های دی نیتریفایر قادر به تولید ترکیبات معدنی کربناته هستند (۲۶) از جمله عواملی که در تشکیل این دسته از گرانول‌ها دخالت دارند pH است که سبب رسوب و تشکیل هسته اولیه مواد معدنی جهت تجمع باکتری‌ها می‌گردد.

همان‌گونه که در شکل ۳ و در نتایج آنالیز اشعه X مشخص شده است، حضور یون کلسیم تنها محدود به هسته گرانول نیست و در کل سطح برش خورده گرانول نیز دیده می‌شود که این پدیده با نتایج دیگر مطالعات، مبنی بر حضور یون کلسیم، تنها در هسته مطابقت ندارد (۵). پس یون کلسیم نه تنها در

شکل‌گیری که در گسترش لایه‌های خارجی تر گرانول نیز نقش اساسی دارد. اما از نتایج آنالیز اشعه X پیداست که حضور یون فسفر تنها محدود به بخش داخلی تر بوده و در لایه‌های خارجی نقش کمتری دارد (شکل ۳).

## ۲- گرانول بیولوژیکی با پایه تشکیل شده از باکتری‌ها و رشته‌ای

در این دسته از گرانول‌ها با ایجاد شرایط مناسب برای رشد رشته‌ای‌هایی از قبیل قارچ و باکتری‌ها، و غلبه آنها در راکتور، ساختارهای درهم تنیده مشبکی از رشته‌ها تشکیل می‌شود که به عنوان پایه‌ای برای رشد باکتری‌های کروی بر سطح آنها عمل کرده و از طرف دیگر مانند یک صافی برای به دام انداختن باکتری‌ها عمل می‌کند (شکل ۴). به هر حال گروه غالب در ساختار این دسته، غیر رشته‌ای‌هایی از قبیل باکتری‌های کروی هستند این دسته ساختار به هم فشرده‌ای دارند. به هم فشردگی باکتری‌ها در گرانول‌ها در مطالعات دیگری نیز گزارش شده است (۲۷). این دسته از گرانول‌ها در هنگام بالا بردن غلظت نمک در روزهای اول ناپدید شده و پس از چند روز با سپری شدن دوره سازگاری مجدداً در راکتور مشاهده می‌شدند. در مطالعه‌ای که PH راکتور همواره تنظیم می‌شده و  $\text{NaHCO}_3$  به آن افزوده می‌شد گرانول‌های دارای این چنین ساختاری مشاهده شده بودند (۱).

## ۳- گرانول‌های بیولوژیکی تشکیل شده از باکتری‌های رشته‌ای و قارچ‌ها

با مساعد شدن شرایط برای رشد باکتری‌های رشته‌ای و قارچ‌ها، جمعیت آنها در داخل راکتور افزایش یافته و در اثر درهم تنیدن آنها دسته‌ای کلاف مانند از تجمع رشته‌ای‌ها تشکیل می‌شود. در ادامه، در اثر در هم پیچیده شدن آنها به دلیل اختلاط ناشی از هوادهی سرانجام تجمع‌هایی را تشکیل می‌دهند که پر مانند (fluffy) و به رنگ سیاه هستند. این شبکه اسفنجی به دلیل داشتن تخلخل فراوان حجیم بوده و بلافاصله بعد از خروج

از راکتور و با قرار گرفتن در محیط آزاد، با تخلیه منافذ آن از سیال، به سرعت پلاسیده می‌شود. با وجود این که دانسیته آن پس از آنگیری تقریباً نصف دانسیته گروه دیگر است، ولی مشاهده می‌شود که سرعت ته‌نشینی دو دسته تقریباً معادل هم می‌باشد (جدول ۱) این پدیده به دلیل نفوذ آب (سیال) با دانسیته بالا ( $1000 \text{ kg/m}^3$ ) به درون ساختار متخلخل این دسته می‌باشد که باعث افزایش سرعت ته‌نشینی پس از یک زمان بسیار کوتاه می‌شود. البته باید خاطر نشان کرد که این ویژگی تنها در صورت کم تعداد بودن گرانول‌ها سودمند است اما در هنگام مواجهه شدن با توده‌ای از گرانول‌های دارای این ویژگی، در نهایت لجنی تشکیل می‌شود که به سختی فشرده شده و برای ته‌نشینی و رسیدن به مرحله‌ای با فضای اشغالی کم و معقول، به زمان ته‌نشینی بالایی نیاز خواهد بود. این نوع لجن دارای SVI بالا ( $200 < \text{mL/g}$ ) می‌باشد که مطلوب نیست. گرانول‌های نشان داده شده در شکل‌های (۵-ب) و (۵-ج) از جهت فشردگی با هم مقایسه شده‌اند. این مکانیسم سبب تشکیل گرانول‌هایی با درصد مواد آلی بالا می‌شود (جدول ۱). در این نوع ته‌نشینی اجتماع بیولوژیکی مانند پتویی عمل می‌کند که پساب می‌بایست از آن عبور نموده و به سمت بالا حرکت کند، بنابراین خروجی بسیار شفاف (TSS خروجی حدود ۰/۶ روزهای قبل بود) بوده و حتی باکتری‌های دارای رشد پراکنده هم در این مکانیسم، در اجتماع لجن به دام می‌افتند. در مقایسه با گرانول‌های دسته ۱ و ۲ این دسته در مقابل شوک‌های بالای نمک مقاوم‌تر بوده و در تمام شرایط در راکتور مشاهده شدند. این موضوع از طرفی به مشخصات سینتیک رشد باکتری‌های رشته‌ای مربوط می‌شود و از طرفی هم به دلیل متخلخل بودن ساختار این گروه به سادگی مواد غذایی در اختیار باکتری‌هایی که در مرکز هستند قرار گرفته و سبب پایداری ساختار این دسته می‌شود. در مطالعه Yang در راکتوری که pH ورودی بدون کنترل و حدود ۳ و غلظت  $\text{HCO}_3^-$  حدود  $5 \text{ mg/L}$  بود گرانول‌های دارای ساختاری مشابه آنچه گفته شد، وجود داشت (۱).



در شکل‌گیری گرانول‌ها موثر بوده است (۳۱). وجود حفره در ساختار گرانول‌ها (شکل ۸) نشان‌دهنده حفره‌هایی در داخل گرانول‌هاست. وجود این حفره‌ها برای ورود مواد غذایی و نیز خروج مواد حاصل از فعالیت باکتری‌هاست (۱۰).

### نتیجه‌گیری

گرانول‌های تشکیل شده‌ای که در آن جمعیت غالب باکتری‌های کروی هستند به هم فشرده تر بوده و دارای سرعت ته‌نشین بالاتری‌اند، این دسته دارای قابلیت آبیگری بهترند که این امر نکته‌ای راهگشا در مدیریت لجن دفعی خواهد بود، در مقابل گرانول‌هایی که در آن رشته‌ای‌ها غالب بودند دارای تخلخل بیشتر بوده و دارای ته‌نشینی نامناسب‌ترند. از آنجا که حضور نمک در غلظت‌های متغیر سبب پلاسمولیز شدن دسته‌ای از باکتری‌ها شده و ترکیبات EPS را افزایش می‌دهد، یکی از دلایل تشکیل گرانول حضور غلظت‌های مختلف نمک است. با توجه به شکل‌گیری هر دو نوع گرانول‌های قهوه‌ای روشن و سیاه در این راکتور و استفاده از گلوکز به عنوان منبع کربن می‌توان اظهار داشت که نوع گرانول‌های تشکیل شده و حتی جمعیت باکتریایی غالب، مستقل از نوع منبع کربن است.

۴- تشکیل گرانول‌های بیولوژیکی با مشارکت پروتوزوئرها غلبه پروتوزوئرها نشان‌دهنده کیفیت بالای فاضلاب خروجی است. این دسته به عنوان شکارچی اصلی باکتری‌ها در تصفیه فاضلاب مطرح بوده، حدود ۵٪ از وزن خشک بیومس فاضلاب را این دسته تشکیل می‌دهند و ۷۰٪ این جمعیت سیلیاته‌ها هستند (۲۸). در مطالعات مشاهده شده که جمعیت سیلیاته‌ها در غلظت نمک بالای ۱۰ g/L به شدت کاهش می‌یابد. البته در بین سیلیاته‌ها پری‌تریث‌ها (peritrichs) از قبیل اپرکولارا (Opercularia) و ورتیسلا (Vorticella) در غلظت‌های بالای ۲۰ g/L هم مقاوم بودند. البته باید خاطر نشان کرد که در غلظت‌های زیر ۵ g/L اکثر جمعیت‌ها قادر به سازگار شدن بودند (۲۹). در این مطالعه با افزایش غلظت نمک همواره جمعیت‌هایی از سیلیاته‌ها مشاهده می‌شدند، به ویژه در غلظت ۱۰-۹ g/L تعداد آن بسیار زیاد گردیده، چنان که اجتماع‌هایی چندتایی از آنها به وفور یافت می‌شد (شکل ۵) که خود این ساختارها قادرند به عنوان هسته‌هایی جهت تشکیل گرانول‌ها عمل کنند.

### نقش مواد پلیمری خارج سلولی (EPS) در تشکیل گرانول‌های بیولوژیکی

مواد پلیمری خارج سلولی (EPS) مولکول‌های سنگین‌های وزن تولید شده از تخریب سلول‌ها و نیز هیدرولیز ماکرومولکول‌هاست. برخی مواد آلی فاضلاب می‌توانند به ماتریس‌های EPS جذب شوند. بخش عمده EPS از کربوهیدرات‌ها و پروتئین است (۳۰). پلیمرهای خارج سلولی در لایه داخلی اغلب گرانول‌ها به فراوانی مشاهده می‌شود که نقش آن به هم پیوسته نگه داشتن باکتری جهت تشکیل ساختار گرانول‌هاست که می‌توان آن را در تصاویر تهیه شده به روش SEM تشخیص داد (۱۹). در شکل ۷ این ساختار نمایش داده شده است. همان گونه که در تصویر هم پیداست این ترکیبات بین سلول‌های باکتریایی قرار گرفته و باعث به هم چسبیدن آنها می‌گردند به گونه‌ای که در نهایت منجر به تشکیل یک توده بیولوژیکی متراکم می‌شوند. در مطالعه Yogalakshmi مشخص شده که با افزایش شوری مقدار ترکیبات EPS افزایش یافته پس می‌توان نتیجه گرفت که وجود شوری در این مطالعه

## منابع

1. Yang SF, Li XY, Yu HQ. Formation and characterisation of fungal and bacterial granules under different feeding alkalinity and pH conditions. *Process Biochemistry*. 2008;43(1):8-14.
2. Qin L, Liu Y, Tay J-H. Effect of settling time on aerobic granulation in sequencing batch reactor. *Biochemical Engineering Journal*. 2004;21(1):47-52.
3. Sun F-Y, Yang C-Y, Li J-Y, Yang Y-J. Influence of different substrates on the formation and characteristics of aerobic granules in sequencing batch reactors. *Journal of Environmental Sciences*. 2006;18(5):864-71.
4. Wang X, Zhang H, Yang F, Wang Y, Gao M. Long-term storage and subsequent reactivation of aerobic granules. *Bioresource Technology*. 2008;99(17):8304-09.
5. Ren T-T, Liu L, Sheng G-P, Liu X-W, Yu H-Q, Zhang M-C, et al. Calcium spatial distribution in aerobic granules and its effects on granule structure, strength and bioactivity. *Water Research*. 2008;42(13):3343-52.
6. Sheng G-P, Li A-J, Li X-Y, Yu H-Q. Effects of seed sludge properties and selective biomass discharge on aerobic sludge granulation. *Chemical Engineering Journal*. 2010;160(1):108-14.
7. Li Y, Liu Y, Xu H. Is sludge retention time a decisive factor for aerobic granulation in SBR? *Bioresource Technology*. 2008;99(16):7672-77.
8. Adav SS, Lee D-J, Lai J-Y. Treating chemical industries influent using aerobic granular sludge: Recent development. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2009;40(3):333-6.
9. Adav SS, Lee D-J, Tay J-H. Extracellular polymeric substances and structural stability of aerobic granule. *Water Research*. 2008;42(6-7):1644-50.
10. Muda K, Aris A, Salim MR, Ibrahim Z, Yahya A, van Loosdrecht MCM, et al. Development of granular sludge for textile wastewater treatment *Water Research*. 2010;44(15):4341-50.
11. Moussavi G, Barikbin B, Mahmoudi M. The removal of high concentrations of phenol from saline wastewater using aerobic granular SBR. *Chemical Engineering Journal*. 2010;158(3):498-504.
12. Ye L, Peng C-Y, Tang B, Wang S-Y, Zhao K-F, Peng Y-Z. Determination effect of influent salinity and inhibition time on partial nitrification in a sequencing batch reactor treating saline sewage. *Desalination*. 2009;248(1-3):235-45.
13. Uygur A. Specific nutrient removal rates in saline wastewater treatment using sequencing batch reactor. *Process Biochemistry*. 2006;41(1):61-6.
14. Li Z, Zhang T, Li N, Wang X. Granulation of filamentous microorganisms in a sequencing batch reactor with saline wastewater. *Journal of Environmental Sciences*. 2010;22(1):62-7.
15. Adav SS, Lee D-J, Lai J-Y. Aerobic granulation in sequencing batch reactors at different settling times. *Bioresource Technology*. 2009;100(21):5359-61.
16. Cassidy DP, Belia E. Nitrogen and phosphorus removal from an abattoir wastewater in a SBR with aerobic granular sludge. *Water Research*. 2006;39(19):4817-23.
17. Beun JJ, Hendriks A, van Loosdrecht MCM, Morgenroth E, Wilderer PA, Heijnen JJ. Aerobic granulation in a sequencing batch reactor. *Water Research*. 1999;33(10):2283-90.
18. APHA. *Standard Methods for the Examination of Waters and Wastewaters*. 21st ed. Washington, DC: American Public Health Association (APHA); 2005.
19. Baloch MI, Akunna JC, Kierans M, Collier PJ. Structural analysis of anaerobic granules in a phase separated reactor by electron microscopy. *Bioresource Technology*. 2008;99(5):922-9.
20. Figueroa M, Mosquera-Corral A, Campos J, Mendez R. Treatment of saline wastewater in SBR aerobic granular reactors. *Water Science & Technology*. 2008;58(2):479-85.
21. Tay J-H, Liu Q-S, Liu Y. Microscopic observation of aerobic granulation in sequential aerobic sludge blanket reactor. *Journal of applied microbiology*. 2001;91(1):168-75.
22. Jang A, Yoon Y-H, Kim IS, Kim K-S, Bishop PL. Characterization and evaluation of aerobic granules in sequencing batch reactor. *Journal of Biotechnology*. 2003;105(1-2):71-82.
23. Tay S, Ivanov V, Yi S, Zhuang WQ, Tay JH.

- Presence of anaerobic Bacteroides in aerobically grown microbial granules. *Microbial Ecology*. 2002;44(3):278-85.
24. Liu Y, Tay JH. The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. *Water Research*. 2002;36(7):1653-65.
25. Zheng Y-M, Yu H-Q, Sheng G-P. Physical and chemical characteristics of granular activated sludge from a sequencing batch airlift reactor. *Process Biochemistry*. 2005;40(2):645-50.
26. Juang Y-C, Adav SS, Lee D-J, Tay J-H. Stable aerobic granules for continuous-flow reactors: Precipitating calcium and iron salts in granular interiors. *Bioresource Technology*. 2010;101(21):8051-57.
27. Kim IS, Kim S-M, Jang A. Characterization of aerobic granules by microbial density at different COD loading rates. *Bioresource Technology*. 2008;99(1):18-25.
28. Low EW, Chase HA. Reducing production of excess biomass during wastewater treatment. *Water Research*. 1999;33(5):1119-32.
29. Salvado H, Mas M, Menendez S, Gracia MP. Effects of shock loads of salt on protozoan communities of activated sludge. *Acta Protozoologica*. 2001;40(3):177-86.
30. Sheng G-P, Yu H-Q, Li X-Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review. *Biotechnology Advances*. 2010;28(6):882-94.
31. Yogalakshmi KN, Joseph K. Effect of transient sodium chloride shock loads on the performance of submerged membrane bioreactor. *Bioresource Technology*. 2010;101(18):7054-61.

## **Aerobic Granulation in Sequencing Batch Reactor (SBR) Treating Saline Wastewater**

**Ensieh Taheri, Mahdi Hajian nejad, \*Mohammad Mahdi Amin, Hossein Farrokhzadeh,  
Maryam Hatamzadeh, Marzieh Vahid Dastjerdi**

Department of Environmental Health Engineering, School of Health, , Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Received: 16 September 2011

Accepted: 29 November 2011

### **ABSTRACT**

**Background and Objectives:** Aerobic sludge granulation is an advanced phenomenon in which its mechanisms have not been understood. Granulation can be a promising and novel biological wastewater treatment technology to eliminate organic and inorganic materials in future. High salinity is a parameter which leads to plasmolysation and reduction of the cell activity. This could be a problem for biological treatment of the saline wastewater. Aerobic granule was formed and investigated during this study.

**Materials and Methods:** This study is an intervention study on the treatment of wastewater with 500-10000 mg/L concentration of NaCl by sequencing batch reactor. A synthesized wastewater including nutrient required for microorganism's growth was prepared. Input and output pH and EC were measured. Range of pH and DO varied between 7-8, and 2-5 mg/L, respectively. SEM technology was used to identify granules properties.

**Results:** In terms of color, granules divided into two groups of light brown and black. Granule ranged in 3-7mm with the sediment velocity of 0.9-1.35 m/s and density of 32-60 g/L. Properties of granules were varied. Filamentous bacteria and fungi were dominant in some granules. However non filamentous bacteria were dominant in others. EDX analysis indicated the presence of Ca and PO<sub>4</sub>.

**Conclusion:** Granules with non filamentous bacterial were compact and settled faster. Presence of different concentrations of salinity led to plasmolysis of the bacterial cells and increased concentrations of EPS in the system as a result of which granulation accelerated.

**Keywords:** Aerobic biological granule, Saline wastewater treatment, Sequencing batch reactors

---

\*Corresponding Author: [amin@hlth.mui.ac.ir](mailto:amin@hlth.mui.ac.ir)  
Tel: +98 311 7922686, Fax: +98 3116682509