مجله سلامت و محیط، فصلنامه‌ی علمی پژوهشی
انجمن علمی بهداشت محیط ایران
دوره سوم، شماره دوم، تابستان ۱۳۸۹، صفحات ۱۱۱ تا ۱۲۲

تعیین پارامترهای سینتیکی تجزیه نفت خام با استفاده از باکتری سودوموناس آئروژنوزا

امیررضا طلایی خوزانی[۱]، نعمت ا... جعفرزاده حقیقی فرد[۲]، محمدرضا طلایی خوزانی[۳]، مسعود بهشتی[۴]
نویسنده مسئول: استان مرکزی، دلیجان، خیابان دانشگاه، موسسه آموزش عالی جامی *atalaie@jami.ac.ir*

دریافت: ۸۸/۰۹/۳۰ پذیرش: ۸۸/۱۲/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: *ورود ترکیبات نفتی به محیط زیست در کلیه مراحل مختلف استخراج، حمل و نقل، نگه داری و... در صنایع نفت امکان پذیر است. بدین سبب محققین فراوانی بر روی حذف ترکیبات نفتی در محیط به روش‌های گوناگون فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی مطالعه نموده اند. از جمله روش‌های مورد استفاده در حذف ترکیبات نفتی از محیط، روش‌های بیولوژیکی می باشد که به دلیل سادگی و اقتصادی بودن معمولا بیش از سایر روش‌ها مورد مطالعه قرار گرفته اند. هدف از انجام این تحقیق تعیین ضرایب بیوسینتیک فرآیند حذف نفت توسط میکروارگانیسم جدا شده درتحقیقات قبلی از سویه سودوموناس آئروژنوزا بر اساس معادله مونود بود.*

روش بررسی: *در این مطالعه پارامترهای سینتیکی فرایند حذف بیولوژیکی نفت توسط میکروارگانیسمی از سویه سودوموناس آئروژنوزا که قبلا در تحقیقات منتشر شده از خاک پمپ بنزین جداسازی شده بود و برای تجزیه ترکیبات نفتی مورد استفاده قرار گرفته بود، تعیین گردید. میکروارگانیسم ها در این مطالعه در محیط کشت مایع که حاوی نفت خام به عنوان تنها منبع کربن بود رشد یافتند. در نهایت با تعیین مقدار میکروارگانیسم و غلظت نفت ضرایب بیوسنتیک مشخص شدند. برای این امر از معادله اصلاح شده مونود استفاده شد.*

یافته ها: *با توجه به اینکه پل ارتباطی بین نتایج حاصل از مطالعات آزمایشگاهی و کاربردهای صنعتی حذف بیولوژیکی در تصفیه فاضلاب، تعیین ضرایب بیوسینتیک است، مطالعات بیوسینتیک برای تکمیل نتایج تحقیقات قبلی انجام پذیرفت. در این مطالعه میزان kd برابر ۰/۱۰۷ بر معکوس روز، Y برابر با ۰/۸۸۲ میلی گرم بر لیتر، k برابر با ۹/۳۹ بر معکوس روز و در نهایت Ks برابر با ۱۶۹/۳ میلی گرم بر لیتر در روز محاسبه گردید.*

نتیجه گیری: *در این مطالعه مشخص گردید که امکان استفاده از سودوموناس آئروژنوزا در مقیاس صنعتی وجود دارد. نتایج این مطالعه نیز منجر به معرفی پارامترهای بیوسینتیکی گردید.*

واژگان کلیدی: نفت خام، تجزیه بیولوژیکی، ضرایب بیوسینتیک، تصفیه فاضلاب

۱-کارشناس ارشد محیط زیست و عضو هیئت علمی گروه مهندسی عمران و محیط زیست، موسسه آموزش عالی جامی
۲- دکترای بهداشت محیط و دانشیار دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز
۳- دکترای مهندسی شیمی، دانشیار دانشگاه اصفهان
۴- دکترای مهندسی شیمی، استادیار دانشگاه اصفهان

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2025-01-03]

مقدمه

نشت و پخش شدن تصادفی ترکیبات نفتی دو عامل مهم ورود ترکیبات نفتی در هنگام اکتشاف، تولید، پالایش، حمل و نقل و نگه‌داری ترکیبات نفتی است. ورود فراورده های ناشی از نفت خام از طریق کشتی هایی که قادر به حمل بیش از هزاران تن فراورده های نفتی هستند یکی از عوامل آلاینده دریاها و اقیانوس ها به این گونه ترکیبات است که میزان آن نیز روز به روز افزایش می یابد (۱). بخش های مختلف نفت خام نیز می تواند به طرق متفاوت وارد محیط زیست گردد. گازوییل، بنزین، نفت سفید، نفت کوره و... به طور گسترده ای در زندگی امروزی بشر مورد استفاده قرار می‌گیرند و رها شدن تصادفی و یا نشت آنها منجر به آلودگی آب و خاک شده و مشکلات فراوانی را برای محیط زیست ایجاد می نماید. سوخت های متداول که از مشتقات نفت خام می باشند ترکیبی پیچیده شامل پارافین ها، الفین ها، هیدروکربن های آروماتیک، هیدروکربن های آلیفاتیک و مقادیر اندکی از مولکول های حاوی سولفور، نیتروژن و اکسیژن می باشد(۲). به طور معمول ترکیبات آروماتیک موجود در نفت خام سمی تر از ترکیبات آلیفاتیک با همان تعداد اتم کربن است و در غلظت های بالاتری نیز در آب یافت می شوند که این امر به دلیل پنج برابر بالاتر بودن حلالیت آروماتیک ها در مقایسه با آلیفاتیک هاست(۳). روش های گوناگون برای حذف این ترکیبات در محیط های آبی پیشنهاد شده است. روش های فیزیکی مانند شناورسازی و روش های شیمیایی مانند استفاده از سورفکتانت ها به طور معمول پرهزینه و دارای محدودیت های فراوانی هستند. تحقیقات بسیاری بر روی تجزیه بیولوژیکی ترکیبات نفتی به انجام رسیده و نشان داده است که این روش کاملا امکان پذیر بوده و می تواند یکی از اقتصادی ترین و موثر ترین روش های حذف ترکیبات نفتی از محیط های آبی باشد(۱۰-۴). در این زمینه مطالعات مشابهی نیز به انجام رسیده است. به طور مثال لی و همکارانش (۱۱) در مطالعه ای بر روی تجزیه بیولوژیک فاضلاب های تولیدی در مناطق نفت خیز توانستند تعدادی میکروارگانیسم را شناسایی نمایند که قادر به مصرف نفت خام به صورت محلول در آب و یا به صورت قطرات ریز بودند. لی با کمک این میکروارگانیسم ها توانست ۸۵٪ نفت خام موجود در این گونه پس آب ها را در مدت زمان ۷ روز تجزیه نماید. تلز و همکارانش به بررسی یک سیستم لجن فعال در حذف کل ترکیبات هیدروکربنی (TPH) از آب های شور خارج شده از چاه‌های نفت که در حد اشباع حاوی نفت خام به صورت محلول و قطرات ریز بودند پرداختند. تلز از روش سازگارسازی (Adaptation) برای افزایش قابلیت میکروارگانیسم های موجود در لجن فعال برای تجزیه ترکیبات نفتی استفاده نمود. وی موفق شد در مدت زمان ۲۰ روز ۹۸٪ کل ترکیبات نفتی موجود در این پس آب ها را تجزیه نماید و در نهایت نیز به بررسی ضرایب بیوسینتیک پرداخت (۱۲). دیبل و همکارش بارتا نیز در مطالعه خود به بررسی تاثیر حضور نیتروژن، فسفر و آهن در حذف ترکیبات نفتی در آب دریا پرداختند. آن ها دریافتند آب دریا حاوی مقادیر مورد نیاز آهن برای رشد میکروارگانیسم های نفت خوارست ولی نیتروژن و فسفر کافی را در اختیار ندارد (۱۳). ویرا و همکارانش (۲) نیز در مطالعه‌ای به مقایسه تجزیه بیولوژیک گازوییل توسط دو دسته از میکروارگانیسم‌های جدا شده از خاک دریاچه ای که حاوی مقادیر زیادی از گازوییل بود پرداختند. آنها موفق به حذف ۹۰٪ گازوییل موجود در آب در مدت زمان ۴۰ روز شدند و در ادامه کار بهینه سازی شرایط رشد این میکروارگانیسم ها را نیز انجام دادند. طلایی و همکاران(۱۴) در سال ۱۳۸۸ نیز در مطالعه خود موفق به جداسازی میکروارگانیسم هایی از خاک آلوده به بنزین و گازوییل در یک پمپ بنزین شدند که قادر به تجزیه گازوییل بود. هم چنین آنها در مطالعه ای دیگر در همان سال نیز موفق به جداسازی میکروارگانیسم های دیگر شده بودند که قادر به تجزیه نفت خام شناور بر روی آب بود (۱۵). کلیه تحقیقات فوق بدون انجام مطالعات بیوسینتیک قابلیت کاربرد مستقیم در صنعت را ندارند. لذا محققین مختلف پس از یافتن میکروارگانیسم ها و انجام مطالعات گوناگون بر

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2025-01-03]

روی آنها به بررسی ضرایب بیوسینتیک آنها نیز می پردازند. به طور مثال تلز و همکاران در مطالعه خود با کمک معادله اصلاح شده مونود در یک سیستم تصفیه فاضلاب های نفتی به روش لجن فعال ضرایب بیوسینتیک را مشخص نمودند (۱۲). هم چنین طلایی و همکارانش در مطالعه ای در سال ۱۳۸۶ ضرایب بیوسینتیک تعدادی از میکروارگانیسم های جداسازی شده از خاک و فاضلاب را که در تجزیه نفت خام شناور بر روی آب به کار گرفته شده بودند مشخص نمودند. آنها در مطالعه خود از معادله مونود استفاده کردند (۱۸). جنیدی و همکارانش نیز در مطالعه خود به بررسی کشت خالص باکتری سودوموناس آئروژنوزا در تجزیه فرمالدهید پرداختند. آنها در مطالعه خود ضرایب بیوسینتیک را نیز با کمک معادله مونود بررسی نمودند (۱۶).

در این مطالعه محققین میکروارگانیسم های جدا شده در تحقیق قبلی خود را که از نوع سودوموناس آئروژنوزا بود و در تجزیه نفت خام شناور بر روی سطح آب به کار گرفته شده بود مورد استفاده قرار داده و پارامترهای سینتیکی آن را توسط معادله مونود مورد بررسی قرار دادند.

مواد و روش ها

جداسازی میکرو ارگانیسم ها

میکروارگانیسم های مورد استفاده در این مطالعه قبلا در تحقیق دیگری توسط نویسندگان مقاله از خاک اطراف یک پمپ بنزین در شهر اهواز جداسازی و شناسایی شده بود (۱۵). در مطالعه قبلی جهت جداسازی و خالص سازی این میکروارگانیسم از خاک از روش کشت در محیط مایع برای جداسازی میکروارگانیسم ها و پس از آن استفاده از کشت خطی برای خالص سازی آنها استفاده گردیده بود (۱۵). پس از بررسی کارایی میکروارگانیسم های جدا شده و خالص‌شده از نظر کارایی در حذف نفت خام شناور بر روی سطح آب بهترین آنها (از لحاظ راندمان حذف نفت خام) مشخص و مورد شناسایی قرار گرفت. در آن مطالعه میکروارگانیسم مورد نظر سودوموناس آئروژنوزا شناسایی گردید که کارایی بالایی در تجزیه ترکیبات نفتی را از خود نشان داده بود. از میکروارگانیسم مذکور جهت نگه‌داری طولانی و استفاده در مطالعات بعدی اسلنت تهیه گردید و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگه داری شد.

میکروارگانیسم ها هر ۴ ماه یک بار پس از مرحله فعال سازی به اسلنت های جدید منتقل می شدند تا امکان استفاده از آنها در تحقیقات بعدی میسر باشد (۱۸-۱۶)

در این مطالعه جهت به کارگیری میکروارگانیسم های جدا شده در تحقیقات قبلی در مقیاس صنعتی، با کمک معادله تصحیح شده مونود بررسی های لازم برای تعیین پارامترهای سینتیکی آن انجام شد.

معادله مورد استفاده

در این معادله از مدل اصلاح شده مونود استفاده گردید (۱۷). معادله مورد استفاده در این مطالعه به صورت زیر به دست آمد:

$$r_{su} = -\frac{kXS}{K_s + S} = -\frac{S_0 - S}{\theta} \qquad (۱)$$

با تقسیم معادله فوق بر X معادله شماره ۲ به دست می آید:

$$\frac{kS}{K_S + S} = \frac{S_0 - S}{\theta X} \qquad (۲)$$

معادله ۳ با معکوس نمودن معادله شماره ۲به دست آمد:

$$\frac{X\theta}{S_0 - S} = \frac{K_S}{k}\frac{1}{S} + \frac{1}{k} \qquad (۳)$$

مقدار K_s و $\frac{1}{k}$ را می توان با رسم $\frac{X\theta}{S_0 - S}$ در مقابل $\frac{1}{S}$ محاسبه نمود. مقدار Y و k_d توسط معادله زیر محاسبه می گردد:

$$\frac{1}{\theta_c} = -Y\ \frac{r_{su}}{X} - k_d \qquad (۴)$$

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2025-01-03]

با توجه به $r_{su} = -\frac{S_0 - S}{\theta}$ معادله ۴ به صورت زیر به کار گرفته شد:

$$\frac{1}{\theta_c} = Y\frac{S_0 - S}{X\theta} - k_d \qquad (۵)$$

با رسم $\frac{1}{\theta_c}$ در مقابل $\frac{S_0 - S}{X\theta}$ شیب خط حاصل برابر با Y و عرض از مبداء آن برابر با $-k_d$ می باشد. در معادلات فوق پارامتر S_0 غلظت ماده آلاینده ورودی، S غلظت ماده آلاینده در خروجی، X غلظت میکروارگانیسم ها، θ زمان ماند هیدرولیکی، θ_c زمان ماند میکروبی، K_d ضریب مرگ سلولی و K_S ثابت نیم سرعت می باشد. هم چنین در معادلات فوق K نرخ حداکثر مصرف ماده آلاینده در واحد جرم میکروارگانیسم ها می باشد. این پارامتر ($K\mu$) طبق معادله ۶-۲ با Y، یعنی ضریب حداکثر بازده و μ_{max} یا همان حداکثر نرخ رشد ویژه در ارتباط است. پس از محاسبه مقدار K و Y از طریق معادلات فوق می توان مقدار μ_{max} را به کمک معادله ۶ محاسبه نمود (۱۹).

$$k = \frac{\alpha_{max}}{Y} \qquad (۶)$$

تولید محیط کشت معدنی

برای انجام آزمایش ها در محیطی فاقد هرگونه منبع کربن محیط کشت زیر طراحی و در آزمایش ها برای تعیین ضرایب بیوسینتیک مورد استفاده قرار گرفت. لازم به ذکر است که در طول این مطالعه از نفت خام به عنوان تنها منبع کربن استفاه می گردد.

۰/۱ گرم در لیتر $MgSO_4$، ۰/۵ گرم در لیتر KH_2PO_4، ۰/۰۱ گرم در لیتر $CaCl_2{,}2H_2O$، ۰/۰۰۱ گرم در لیتر $FeSO_4$، ۱ گرم در لیتر $NaNO_3$، ۰/۵ گرم در لیتر K_2HPO_4 و pH نمونه به کمک محلول هیدروکسید سدیم بر روی ۷/۲ تنظیم شد(۱۸).

افزایش تعداد میکروارگانیسم ها

جهت بررسی پارامترهای سینتیکی از اسلنت های تهیه شده برای نگه داری سودوموناس آئروژنوزا به کمک لوپ آزمایشگاهی و در شرایط استریل مقدار میکروارگانیسم به محیط کشت مایع نوترینت براث که یک محیط کشت بسیار متداول در تحقیقات میکروبیولوژی برای رشد اکثر میکروارگانیسم ها می باشد، انتقال یافت (۱۸). از ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی لیتری که ۱۰۰ میلی لیتر از آن با محیط کشت مذکور پر شده بود برای کشت سودوموناس استفاده شد. کلیه مراحل انتقال و تلقیح در زیر هود میکربی و در مقابل شعله انجام پذیرفت تا از انتقال سایر میکروارگانیسم های موجود در هوا به محیط کشت جلوگیری شود. ارلن مایر حاوی محیط کشت در یک شیکر انکوباتور با شدت هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه و دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت نگه داری شد. پس از این مدت میکرو ارگانیسم‌ها به شدت شروع به رشد نموده و محیط کشت به دلیل رشد آنها به شدت کدر شد. جهت جداسازی میکروارگانیسم ها از محیط کشت طبق روش های استاندارد از سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه استفاده گردید (۱۴-۱۶). مقدار میکروارگانیسم های اولیه اندازه گیری شد و از آنها در غلظت های یکسان برای تعیین پارامترهای سینتیکی استفاده شد.

تعیین پارامترهای سینتیکی

برای تعیین پارامترهای سینتیکی ۱۰ عدد ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت معدنی استریل آماده گردید و pH آن دقیقا بر روی ۷ تنظیم شد و در هر کدام ۱ میلی لیتر نفت خام تزریق شد. ۵ عدد از ارلن مایرها بدون تلقیح میکروارگانیسم و به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شدند و ۵ عدد دیگر مورد تلقیح با میکرو ارگانیسم ها قرار گرفتند. کلیه ارلن مایرها در یک شیکر انکوباتور با شدت هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. در زمان های ۲۴ ساعت، ۳۶ ساعت، ۴۸ ساعت، ۶۰ ساعت و ۷۲ ساعت دو ارلن مایر (یکی نمونه حاوی میکروارگانیسم و دیگری نمونه شاهد) از شیکرانکوباتور خارج می گردیدند و مقدار میکروارگانیسم های موجود در آن و مقدار نفت خام باقی مانده اندازه گیری شد (۱۸). پس از گذشت ۷۲ ساعت و به دست آوردن مقادیر مورد نیاز میکروارگانیسم مذکور به تعداد کافی، اطلاعات به دست آمده در معادله اصلاح شده مونود قرار گرفت و میزان پارامترهای مورد نظر محاسبه گردید.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2025-01-03]

روش انجام آزمایش ها

برای اندازه گیری pH در این مطالعه از pH متر دیجیتال استفاده شد. جهت اندازه گیری مقدار نفت خام موجود در محیط از روش استاندارد ارایه شده توسط طلایی و همکارانش استفاده شد (۱۸– ۱۶). این روش هم چنین توسط سایر محققین، نظیر یوروم و همکارانش نیز به طور موفقیت آمیزی مورد استفاده قرار گرفته بود (۲۳). در این روش پس از حل نمودن نفت خام باقی مانده در محیط در یک حلال آلی (تترا کلرید کربن) و جداسازی دو فاز محیط کشت و حلال حاوی نفت، می توان مقدار نفت خام را توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین نمود. بدین منظور از یک دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج قابل تنظیم ۱۹۰ الی ۲۵۰۰ نانومتر و ساخت JascoV–۵۷۰ در طول موج ۴۰۰ نانومتر استفاده گردید. برای حذف خطاهای ناشی از ذرات معلق، نمونه با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه و برای مدت زمان ۱۵ دقیقه مورد سانتریفوژ قرار گرفت. هم چنین جهت جلوگیری از ایجاد خطای ناشی از تولید کمپلکس ها، کلیه نمونه ها قبل از سنجش به کمک اسپکتروفتومتر ۱۰۰ بار رقیق شدند(۲۳و ۱۱). اندازه گیری میکروارگانیسم ها نیز به دو روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۶۰۰ نانومتر و اندازه گیری کل جامدات معلق فرار و به روش استاندارد انجام پذیرفت (۱۸– ۱۶). لازم به ذکر است که از روش اندازه گیری کل جامدات معلق فرار فقط برای کالیبراسیون روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. لازم به توضیح است که باکتری به کار گرفته شده در این مطالعه (سودوموناس آئروژنوزا)، در مطالعات قبلی با کمک کشت در محیط جامد نوترینت آگار و بررسی مورفولوژی باکتری با کمک میکروسکوپ و کلنی های تشکیل شده بر روی محیط کشت، انجام آزمون های اکسیداز، کاتالاز، گرم و بررسی پیگمان های رنگی تولیدی در دمای بالا (۴۰ درجه سانتی گراد) و هم چنین بررسی قابلیت حل شدن این پیگمان ها در آب، کلروفرم و اسید اسیتیک و در نهایت قابلیت کشت در محیط هایی هم چون وژوسپروسکار (Methylred-Vegesproskaure broth) و قابلیت تولید H_2S و قابلیت رشد در محیط بی هوازی شناسایی شد(۱۵).

یافته ها

تحقیق در ضرایب بیوسینتیک پل ارتباطی تحقیقات آزمایشگاهی و صنعت می باشد. به همین دلیل بسیاری از محققین به ارزیابی این ضرایب نیز پرداخته اند. نتایج انجام آزمایش ها در این مطالعه برای تعیین ضرایب بیوسینتیک در جدول ۱ نمایش داده شده است که با کمک این اطلاعات و سایر جداول موجود در ادامه این گزارش ضرایب بیوسینتیک محاسبه گردیدند.

برای تعیین ثابت های سینتیکی K و K_S در این مطالعه ابتدا از معادله زیر استفاده گشت:

$$\frac{X\,\theta}{S_0 - S} = \frac{K_S}{k}\frac{1}{S} + \frac{1}{k} \qquad (۳)$$

جدول۱: مقادیر به دست آمده از آزمایش های تعیین ضرایب بیوسینتیک

شماره	S_0 mg/l	S mg/l	$\theta = \theta_c$ d	X $mgVSS/l$
۱	۷	۱۲۶	۴	۷۸
۲	۱۳	۱۲۶	۲	۷۵
۳	۱۸	۱۲۶	۱/۵	۸۳
۴	۳۰	۱۲۶	۱	۷۹
۵	۴۱	۱۲۶	۰/۵	۷۱

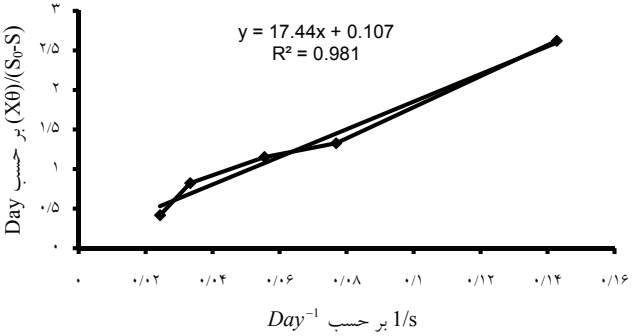
[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2025-01-03]

با استفاده از اطلاعات موجود در جدول ۲ معادله فوق رسم گردید. با رسم $\frac{1}{S}$ در برابر $\frac{X\theta}{S_0 - S}$ شیب خط حاصل از رگرسیون برابر $\frac{K_S}{k}$ و عرض از مبدا آن برابر $\frac{1}{k}$ می باشد.

جدول ۲: مقادیر مختلف $\frac{X\theta}{S_0 - S}$ و $\frac{1}{S}$ محاسبه شده

شماره	$\frac{1}{S}$	$\frac{X\theta}{S_0 - S}$
۱	۰/۱۴۲۸	۲/۶۲۱۸
۲	۰/۰۷۶۹	۱/۳۲۷۴
۳	۰/۰۵۵۵	۱/۱۵۲۷
۴	۰/۰۳۳۳	۰/۸۲۲۹
۵	۰/۰۲۴۳	۰/۴۱۷۶

در شکل ۱ نمودار رگرسیون بین $\frac{1}{S}$ و $\frac{X\theta}{S_0 - S}$ رسم گردیده و با کمک آن ضرایب K و K_S محاسبه گشته است.



شکل ۱: رگرسیون بین $\frac{X\theta}{S_0 - S}$ و $\frac{1}{S}$

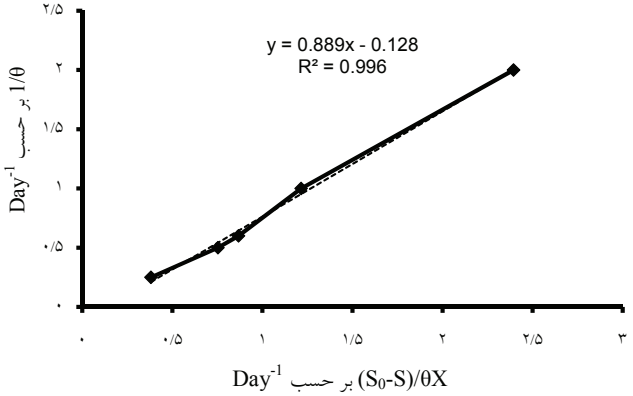
بنابراین میزان K برابر با ۹/۳۱ d^{-1} و میزان K_S برابر mg/L.d ۱۶۲/۴۲ می باشد. در مرحله بعد به کمک معادله ۳-۲ مقدار Y و K_d با کمک معادله زیر و استفاده از داده های جدول ۳ تعیین گردید. با رسم $\frac{(S_0 - S)}{X\theta}$ در برابر $\frac{1}{\theta_c}$ شیب خط برابر Y و عرض از مبدا برابر K_d- می گردد.

$$\frac{1}{\theta_c} = Y\frac{S_0 - S}{X\theta} - k_d \qquad (۷)$$

جدول ۳: مقادیر مختلف $\frac{(S_0 - S)}{X\theta}$ و $\frac{1}{\theta}$ محاسبه شده

شماره	d^{-1} $\frac{1}{\theta}$	d^{-1} $\frac{(S_0 - S)}{X\theta}$
۱	۰/۲۵	۰/۳۸۱۴۱
۲	۰/۵	۰/۷۵۳۳۳
۳	۰/۶	۰/۸۶۷۴۷
۴	۱	۱/۲۱۵۱
۵	۲	۲/۳۹۴۳

در شکل ۲ نمودار رگرسیون خطی بین $\frac{1}{\theta}$ و $\frac{(S_0 - S)}{X\theta}$ رسم گردیده و مقادیر K_d و Y از آن محاسبه گردید.



شکل ۲: رگرسیون خطی بین $\frac{1}{\theta}$ و $\frac{(S_0 - S)}{X\theta}$

بنابراین میزان K_d برابر ۰/۱۲۸۴ d^{-1} و مقدار Y برابر با ۰/۸۸۹۶ میلی گرم در لیتر محاسبه گردید. برای محاسبه μ_{max} از معادله زیر استفاده شد که همان معادله ۲-۶ بر حسب μ_{max} می باشد:

$$\alpha_{max} = kY \qquad (۶)$$

با توجه به معادله فوق میزان μ_{max} برابر ۸/۲۸۲ d^{-1} محاسبه شد.

بحث و نتیجه گیری

مطالعات سینتیکی برای تعمیم امکان استفاده از نتایج تحقیقات در مقیاس صنعتی بسیار مهم می باشد. کنترل شرایط محیطی در تجزیه مواد آلی بسیار مهم است. شرایط محیطی را

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2025-01-03]

می توان با تنظیم pH، تنظیم دما، افزودن مواد مغذی یا عناصر کم یاب، افزودن یا کاستن اکسیژن محلول و اختلاط مناسب کنترل کرد. شرایط زیست محیطی سبب می شود که از وجود محیط مناسب برای رشد میکروارگانیسم ها اطمینان حاصل کرد.

برای اطمینان از رشد میکروارگانیسم ها باید اجازه دهیم میکروارگانیسم ها به مدت کافی در سیستم باقی بمانند تا تکثیر شوند. این زمان به آهنگ رشد آنها بستگی دارد که مستقیما با آهنگ سوخت و ساز آنها یا آهنگ مصرف مواد زاید مرتبط است. اگر شرایط محیطی به درستی کنترل شده باشد، با کنترل آهنگ رشد میکروارگانیسم ها می توان از تثبیت موثر مواد زاید اطمینان یافت. به همین دلیل بیش تر محققین این مطالعات را نیز انجام می دهند. در جدول ۴ مقادیر نمونه وار ضرایب بیوسینتیک مربوط به فاضلاب شهری نمایش داده شده است (۱۹). همان طور که مشخص است مقادیر K_d و K در این مطالعه تقریبا در محدوده مقادیر مربوط به فاضلاب شهری در سیستم لجن فعال می باشد درحالی که مقادیر Y و K_S از حداکثر این مقادیر معمول، اندکی بیش تر است. میزان k محاسبه شده نشان دهنده این واقعیت می باشد که سرعت تصفیه فاضلاب‌های حاوی نفت خام محلول به کمک سودوموناس آئروژنوزا تقریبا در حدود سرعت تصفیه فاضلاب شهری در سیستم لجن فعال می باشد.

در سیستم های باکتریایی مورد استفاده در تصفیه فاضلاب، توزیع سن سلولی به گونه ای است که همه سلول های سیستم در مرحله رشد لگاریتمی نیستند. در نتیجه، رابطه رشد را باید به شکلی اصلاح کرد که انرژی لازم برای نگه داری سلول را توجیه کند (۱۹). عوامل دیگری چون مرگ و میر و طعمه خواری را نیز باید در نظر داشت. معمولا این عوامل را با هم یکی می کنند و فرض می کنند که کاهش جرم سلولی ناشی از این عوامل با غلظت ارگانیسم های موجود تناسب دارد. به همین دلیل از ضریب مرگ سلولی یا k_d استفاده می گردد. به طور معمول میزان k_d یا ضریب مرگ میر سلولی کم تر از سایر ضرایب بیوسینتیک می باشد که در این مطالعه نیز این ضریب کم‌تر از سایر ضرایب محاسبه شده است. میزان k_d محاسبه شده در این مطالعه در محدوده حداکثر این پارامتر در فاضلاب شهری می باشد. بالا بودن مرگ و میر باکتری ها در این مطالعه به خاطر استفاده از کشت خالص نمی تواند به دلیل رقابت یا طعمه خواری باشد ولی این امر را می توان با وجود ترکیبات سمی موجود در نفت خام مانند ترکیبات آروماتیک که بیش از سایر ترکیبات نفتی در آب قابلیت حل شدن را دارند توجیه نمود (۱۱و ۱۸).در ارزیابی بازده کلی هر فرایند تصفیه بیولوژیکی وابستگی ثابت های آهنگ واکنش بیولوژیکی به دما بسیار اهمیت دارد. دما نه تنها بر فعالیت های سوخت و سازی جمعیت میکربی اثر می گذارد، بلکه اثری وسیع بر عواملی چون آهنگ های انتقال گاز و ویژگی های ته‌نشینی مواد جامد بیولوژیکی دارد. در این مطالعه از دمای ثابت ۳۰ درجه سانتی‌گراد برای انجام آزمایش ها استفاده گردید. در جدول ۴ نیز مقادیر نمونه وار ضرایب بیوسینتیک در فرایند لجن فعال در تصفیه فاضلاب شهری نمایش داده شده است.

تلز در مطالعه ای مشابه که در آن به بررسی تصفیه آب آلوده به نفت تولیدی در چاه های نفت در یک سیستم لجن فعال متعارف پرداخته بود مقادیر ضرایب بیوسینتیک را به صورت زیر محاسبه نمود(۱۲):Y برابر ۰/۴۴ mgVSS/mgTPH، (منظور از TPH شاخص کل ترکیبات نفتی است) K_S برابر ۱/۳۶ mg/L، K برابر ۳/۲۸ mgTPH/mgMLSS.d و K_d برابر ۰/۰۴۱/day محاسبه گردید. تلز در مطالعه خود توانست ۹۹٪ کل ترکیبات نفتی موجود در محیط را در طی مطالعات خود تجزیه نماید. همان طور که مشخص است مقادیر Y، K_d، و K خصوصا K_S در مطالعه مذکور کم‌تر از مقادیر محاسبه شده در این تحقیق بود. لازم به ذکر است که مواد نفتی که در مطالعه تلز و همکارانش مورد تجزیه قرار گرفت بخش محلول نفت موجود در آب به علاوه مقدار اندکی قطرات ریز شناور در آب بود لیکن در مطالعه حاضر محققین

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2025-01-03]

جدول ۴: ضرایب بیوسینتیک معمول برای فرایند لجن فعال در تصفیه فاضلاب خانگی (۱۹)

ضرایب	واحد	مقادیر	
		محدوده	معمول
k	day^{-1}	۲ الی ۱۰	۵
K_s	$mg/lBOD_5$	۲۵ الی ۱۰۰	۶۰
	$mg/lCOD$	۱۰ الی ۶۰	۴۰
Y	$VSSmg/BOD_5mg$	۰/۸ الی ۰/۴	۰/۶
k_d	day^{-1}	۰/۰۷۵ الی ۰/۰۲۵	۰/۱

مقادیر فوق برای دمای ۲۰ درجه سانتی گراد گزارش گردیده است.

از نفت خام شناور بر روی سطح آب استفاده نمودند که دارای آلودگی بسیار بالاتری نسبت به مطالعه تلز بود. دلیل آلودگی بالاتر در این مطالعه عدم انحلال مقادیر زیاد نفت در آب می باشد. لیکن نفت به مقدار زیاد می تواند در آب شناور شده و آلودگی شدیدی ایجاد نماید. در این مطالعه ۴ میلی لیتر بر لیتر از نفت خام بر روی سطح آب شناور بود که آلودگی بسیار بالایی را ایجاد می نمود.

ناکلا و همکارانش (۲۰) در مطالعه خود بر روی مدل سازی سینتیک تجزیه بیولوژیک هوازی فاضلاب های حاوی روغن و چربی زیاد ضرایب بیوسینتیک خود را که بر پایه معادله مونود بود به صورت زیر محاسبه نمود. آنها این ضرایب را قبل و بعد از عبور فاضلاب خام از یک سیستم شناور سازی با هوای محلول به صورت درج شده در جدول ۵ محاسبه نمودند:

همان طور که در جدول ۵ مشخص است در مطالعه ناکلا به دلیل استفاده از فاضلابی با COD بسیار بالا که در محدوده ۱۳۱۵۰ الی ۲۳۳۷۵ میلی گرم در لیتر و هم چنین تجزیه پذیری مناسب آن، مقدار ضریب K_s بسیار بالاتر از فاضلاب شهری بود که مقادیر نمونه وار آن قبلا ذکر شده است. با توجه به حلالیت کم ترکیبات تشکیل دهنده نفت خام در آب میزان ضریب K_s در مطالعه حاضر در مقایسه با مطالعه ناکلا بسیار کم تر و برابر با ۱۶۹/۹۳ mg/L.d محاسبه گردید. نقی زاده و همکارانش نیز به بررسی ضرایب بیوسینتیک در فرایند بیوراکتور غشایی مستغرق در تصفیه فاضلاب شهری پرداختند. آنها در مطالعات خود به کمک معادله مونود موفق به تعیین این ضرایب شدند. آنها مقادیر Y، K_d، K_S و μ_{max} را به ترتیب برابر با ۰/۶۷ mgVSS/mgCOD، ۰/۵ day^{-1}، ۶۵/۵ mg/L و ۱/۸۶ day^{-1} محاسبه نمودند (۲۳).

جدول ۵: ضرایب بیوسینتیک حاصل از مطالعات ناکلا در تصفیه فاضلاب های حاوی روغن و چربی

ضرایب بیوسینتیک قبل از عبور فاضلاب از سیستم شناورسازی با هوای محلول		ضرایب بیوسینتیک پس از عبور فاضلاب از سیستم شناور سازی با هوای محلول	
k (mgCOD/mgVSS.D)	۴/۷۷	k (mgCOD/mgVSS.D)	۴/۸۶
K_s (mg/L)	۱۴۲۶۲	K_s (mg/L)	۲۵۳۴۸
Y (mgVSS/mgCOD)	۰/۵	Y (mgVSS/mgCOD)	۰/۱۳۵

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2025-01-03]

اولیورا و همکارانش (۲۱) نیز به بررسی تجزیه بیولوژیکی فرمالدهید در یک راکتور بی هوازی با بستر ثابت پرداختند. اولیورا در مطالعه خود به بررسی ضرایب بیوسینتیک راکتور خود پرداخت و با کمک معادله اصلاح شده مونود توانست مقادیر این ضرایب را با ضریب هم بستگی ۰/۸۸۵۴ به دست آورد. همان طور که در شکل ۱ و شکل ۲ مشخص است ضریب هم بستگی در این مطالعه نیز مناسب و به طور متوسط در آزمایشات مختلف ۰/۹ بوده است. به طور معمول ضرایب بیوسینتیک در مطالعات گوناگون بسیار متفاوت است. حتی در مطالعات مشابه و یا تکرار آنها نیز این جواب ها اندکی تغییر می کند و این امر به دلیل تغییر در سوبسترا و یا ترکیبات مغذی ورودی مانند ترکیبات نیتروژنه است (۲۲).

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2025-01-03]

منابع

1. Hua J. Biodegradation of dispersed marine fuel oil in sediment under engineered pre-spill application strategy. Ocean Engineering. 2006;33:152-67.
2 .Vieira PA, Vieira RB, Franc FP, Cardoso VL. Biodegradation of effluent contaminated with diesel fuel and gasoline. Journal of Hazardous Materials. 2007;140:52-59.
3. Tiburtius ERL, Zamora PP, Leal ES. Contamination of waters by BTXs and processes used in the remediation of contaminated sites. Journal of Quim. 2004;27:1-16.
4. Gogoi BK, Dutta NN, Goswami P, Krishna Mohan TR. A case study of bioremediation of petroleum-hydrocarbon contaminated soil at a crude oil spill site. Adv Environ Res. 2003;7:767-82.
5. Townsend GT, Prince RC, Suflita JM. Anaerobic biodegradation of alicyclic constituents of gasoline and natural gas condensate by bacteria from an anoxic aquifer. FEMS Microbiol Ecol. 2004;49;129-35.
6. Kaluarachchi JJ, Cvetkovic V, Berglund S. Stochastic analysis of oxygen- and nitrate-based biodegradation of hydrocarbons in aquifers. J Cont Hydrol. 2000;41:335-65
7. Bielicka K, Kaczorek E, Olszanowski A, Voelkel A. Examination of biodegradation of hydrocarbons in emulsified systems. Poblish J Environ Stud. 2002;11:11-16.
8. Diaz MP, Grigson SJW, Peppiatt CJ, Burgess JG. Isolation and characterization of novel hydrocarbon-degrading euryhaline consortia from crude oil and mangrove sediments. Mar Biotech. 2000;2:522-32.
9. Lakha SS, Miller M, Campbell RG, Elahimanesh KSP, Hart MM, Trevors JT. Microbial gene expression in soil: methods, applications and challenges. J Microbiol Methods. 2005;63(1):1-19.
10. Grishchenkov VG, Townsend RT, Mcdonald TJ, Autenrieth RL, Bonner JS, Boronin AM. Degradation of petroleum hydrocarbons by facultative anaerobic bacteria under aerobic and anaerobic conditions. Process Biochem. 2000;35:889-96.
11. Li Q, Kang C, Zhang C. Waste water produced from an oilfield and continuous treatment with and oil-degrading bacterium. Process Biochem. 2005;40:873-77.
12. Tellez GT, Nirmalakhandan N, Gardea-Torresdey JL. Performance evaluation of an activated sludge system for removing petroleum hydrocarbons from oilfield produced water. Journal of Advances in Environmental Research. 2002;6:455-70.
13. Dibble JT, Bartha R. Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. Applied and Environmental Microbiology. 1979;37(4):729-39.
14. Talaie AR, Jafaarzadeh N, Talaie MR. Optimization biodegradation of floating diesel fuel contaminated wastewater using the tagochi method. Journal of Water & Wastewater. 2008;20(3):57-68.
15. Talaie AR. Jafaarzadeh N, Talaie MR, Beheshti M. Optimization of floating crude Biodegradation by experimental design method. Koomesh Journal of Semnan University Medical Sciences. 2008;11(1):41-54.
16. Jonidi A, Talaie AR, Jorfi S, Mehrabani MM. Investigation of formaldehyde degradation using isolated microorganisms from wastewater of chemical industries. Iran occupational Health Journal. 2009;5(1-2):47-53.
17. Talaie AR, Talaie MR, Jorfi S, Mehrabani MM. The determination of kinetic parameters in biodegradation of methanol in a SBR Reactor. Proceeding of 2nd Conference and Exhibition of Environmental Engineering; 2008; University of Tehran, Tehran, Iran.
18. Talaie AR. Parametric study of petroleum compounds biodegradation using microorganisms [dissertation]. Ahvaz: Science and Research University Branch-Ahvaz; 2008.
19. Metcalf & Eddy Inc. Wastewater Engineering: Treatment and Reuse. 4th ed. New Delhi: Tata McGraw-Hill; 2003.
20. Nakhla G, Liu V, Bassi A. Kinetic modeling of aerobic biodegradation of high oil and grease rendering wastewater. Bioresource Technology. 2006;97:131-39.
21. Oliverira SVWB, Moraes EM, Adorno MAT, Varesche MBA, Foresti E, Zaiat M. Formaldehyde degradation in an anaerobic packed-bed bioreactor.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2025-01-03]

Water Research. 1999;38:1685-94.
22. Laor Y, Storm PF, Farmer WJ. Bioavailability of phenanthrene sorbed to mineral-associated humic acid. Water Research. 1999;33(7):1719-29.
23. Urum K, Pekdemir T, Copur M. Surfactants treatment of crude oil contaminated soils. Journal of Colloid and Interface Science. 2004;276:456-64.
24. Naghizadeh A, Mahvi AH, Mesdaghinia AR, Sarkhosh M. Bio-kinetic Paramters in municipal wastewater treatment with a submerged membrane Reactor (SMBR). Proceeding of 12th National Congress of Environmental Health; 2008; Tehran, Iran.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2025-01-03]

The Determination of Bio-kinetic Coefficients of Crude Oil Biodegradation Using Pseudomonas Aeruginosa Bacteria

Talaie Khozani A.R.[1], Jafarzadeh Haghighi fard N.[2], Talaie Khozani M.R[3], Beheshti M.[3]

[1] Department of Civil and Environmental Engineering of Jami Institute of Technology, Delijan, Iran

[2]Department of Environmental Heath, School of Health, Jondishapour University of Medical Sciences,Ahwas, Iran

[3]Deapartment of Chemical Engineering, Facultyof Engineering, University of Isfahan, , Isfahan, Iran

Received 21 December 2009; Accepted 14 March 2010

ABSTRACT

Backgrounds and Objectives: Oil pollution can be generated as a result of spillage, leakage, discharge, exploration, production, refining, transport and storage of crude oil and fuels in the environment. Consequently, many researchers have developed and studied the chemical, physical and biological methods to degrade crude oil. Among them, the biological treatments are the most interesting as they are simple and economical methods. The aim of this study was to determine bio-kinetic coefficients of crude oil degradation by pseudomonas aerogenusa. This microorganism was isolated in our previous work.

Materials and Methods: In this study the bio-kinetic coefficients of crude oil biodegradation were evaluated. Pseudomonas aerogenusa bacteria which had been isolated from the soil sample taken from a gas station in our previous work were used in this study. This microorganism was cultured in the liquid medium containing crude oil as sole carbon source. Finally with determining the amount of microorganisms and crude oil concentration during biodegradation process, the bio-kinetic coefficients based on modified Monod equation were calculated.

Results: bio-kinetic coefficients obtained from laboratory studies are vital factors in industrial applications. As a result, the bio-kinetic study was performed to find bio-kinetic coefficients for biodegradation of crude oil using the isolated bacteria. The results showed that , Y, k and were equal 0.107 , 0.882 , 9.39 and 169.3 respectively.

Coculusion: Our results showed that pseudomonas aerogenusa is usable for treatment of oily wastewaters in the full scale facility. Results of this study indicated bio kinetics confections.

Key words: Crude oil, Biodegradation, Bio-kinetic coefficients, Wastewater treatment

***Corresponding Author:** *atalaie@gami.ac.ir*

***Tel:** +98 866 4225678 **Fax:** +98 866 4225678*

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2025-01-03]