

## Biological Removal of Copper and Sulfate from Synthetic Wastewater by Using Sulfate-Reducing Bacteria in Anaerobic Fluid Bed Reactor (AFBR)

Hajizadeh Y<sup>1</sup>, Teiri H<sup>2</sup>, Nazmara Sh<sup>3</sup>, Rezaei M<sup>\*4</sup>

1. Assistant professor, PhD of Environmental Health engineering, Department of Environmental Health and Environment Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2. Lecture, M.Sc in Environmental Health engineering, Department of Environmental Health Engineering, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3. Lecture, M.Sc in Environmental Health engineering, Department of Environmental Health Engineering, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4. PhD student, Environmental Health engineering, Department of Environmental Health, Tarbiat modarres University, Tehran, Iran

\* *Corresponding author.* Tel: +989127242792, Fax: +982182884551, E-mail: rezaei.m1984@gmail.com

Received: May 16, 2015 Accepted: Oct 26, 2015

### ABSTRACT

**Background & Objectives:** Application of sulfate reducing bacteria to remove toxic metal contaminants from environment is considered a cost-effective and valuable method. The purpose of this study was bacterial reduction of sulfate to remove copper from synthetic wastewater under anaerobic conditions.

**Methods:** This experimental study was conducted in a biological reactor at anaerobic conditions. The copper was introduced into reactor at 5 to 75 mg/l. The rate of sulfate reduction and copper removal were studied at retention times of 24 hours or less. All parameters in 50 ml samples were analyzed using the standard methods for experiments of water and wastewater.

**Results:** After the adaptation of bacteria at different concentrations of copper, the maximum copper and sulfate removal at the optimum retention time of 24 hours were recorded 97.19 % and 98.5 %, respectively. The maximum production of H<sub>2</sub>S at optimum operational conditions was about 117 ml/l.

**Conclusion:** The results showed that the reduction of sulfate and copper biological precipitation by this method is acceptable. Alkalinity generated during the process can facilitate the system for treatment of acidic wastewater containing copper sulfate.

**Keywords:** Anaerobic Treatment of Industrial Wastewater; Sulfate-Reducing Bacteria; Copper Removal; Fluid Bed Reactor (AFBR).

## حذف بیولوژیکی مس و سولفات از فاضلاب مصنوعی بوسیله باکتری‌های احیاء کننده سولفات در رآکتور بی‌هوازی با بستری سیال (AFBR)

یعقوب حاجی زاده<sup>۱</sup>، حکیمه طیری<sup>۲</sup>، شاهرخ نظم آرا<sup>۳</sup>، محسن رضائی<sup>۴\*</sup>

۱. استادیار، گروه مهندسی بهداشت محیط و مرکز تحقیقات محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
  ۲. کارشناس، گروه مهندسی بهداشت محیط و مرکز تحقیقات محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
  ۳. مربی، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
  ۴. دانشجوی دکتری، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
- \* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۲۷۲۴۲۷۹۲ فکس: ۰۲۱۸۲۸۸۴۵۵۱ ایمیل: rezaei.m1984@gmail.com

### چکیده

**زمینه و هدف:** استفاده از باکتری‌های احیاء کننده سولفات بمنظور حذف فلزات سنگین سمی از محیط زیست بعنوان یک روش با ارزش و مقرون بصره تلقی می‌گردد. هدف این مطالعه احیای سولفات جهت حذف باکتریایی مس از پساب دست ساز تحت شرایط بی‌هوازی می‌باشد.

**روش کار:** این تحقیق تجربی بوده و در یک رآکتور بیولوژیکی در شرایط بی‌هوازی انجام گردید. غلظت‌های مس از ۵ تا ۷۵mg/l وارد رآکتور شد. میزان احیای سولفات و حذف مس در زمان‌های ماند ۲۴ ساعت و کمتر مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز تمامی پارامترها در نمونه‌های ۵۰ میلی لیتر با بهره گیری از کتاب مرجع روش‌های استاندارد آزمایش‌های آب و فاضلاب انجام گرفتند.

**یافته‌ها:** بعد از تطابق باکتری‌ها به غلظت‌های مس حداکثر راندمان حذف سولفات و مس بترتیب تا ۹۷/۱۹ و ۹۸/۵ درصد در زمان ماند بهینه ۲۴ ساعت ثبت شد. حداکثر تولید سولفید هیدروژن در شرایط بهینه راهبری بوده که در حدود ۱۱۷ml/l بود.

**نتیجه گیری:** نتایج نشان داد احیای سولفات و ترسیب مس با استفاده از این روش از حد قابل قبولی برخوردار است و تولید قلیائیت در طی فرایند می‌تواند سیستم را برای تسهیل تصفیه پساب‌های اسیدی حاوی سولفات و مس، مناسب سازد.

**واژه‌های کلیدی:** تصفیه بی‌هوازی فاضلاب‌های صنعتی، باکتری‌های احیاء کننده سولفات، حذف مس، رآکتور بستری سیال بی‌هوازی (AFBR)

پذیرش: ۹۴/۸/۴

دریافت: ۹۴/۲/۲۶

### مقدمه

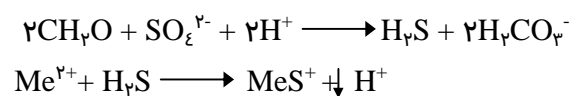
باکتری‌های احیاء کننده سولفات (SRB<sup>۱</sup>) در دستیابی به این هدف و جلوگیری از اثرات زیان بار زیست محیطی نقش مهمی را ایفا می‌کنند (۵،۴). با اینکه مس عنصر حیاتی برای موجودات است ولی میزان بیش از حد آن باعث جلوگیری از متابولیسم‌های سلولی (۶)، همچنین آسیب به سیستم عصبی و در نتیجه ایجاد پروتئین‌های غیرطبیعی در موجودات زنده می‌شود

پساب‌های صنایعی که حاوی مقادیر بالایی از آلودگی‌ها مانند فلزات سنگین و سولفات هستند پتانسیل ایجاد خطرات جدی بر سلامت انسان و محیط زیست را دارند (۲،۱). بنابراین ارائه راهکارهای عملی با کمترین هزینه و بالاترین راندمان برای حذف آنها از اهمیت خاصی برخوردار است (۳،۱).

<sup>1</sup> Sulfate-Reducing Bacteria

روش‌های شیمیایی (اسمز معکوس، فرآیند جذب، تبادل یون، خنثی سازی با مواد قلیا و غیره) (۲، ۹، ۱۵) اخیراً متداولترین روش برای حذف یون‌های فلزی از پساب‌های صنعتی محسوب می‌شدند (۱۶) ولی به علت برخی معایب از جمله تولید لجن زیاد، هزینه بالا (۱۵)، نیاز به تصفیه دوباره لجن تولیدی (۱۷، ۳) و بی‌تأثیر بودن در مقادیر پایین فلزات (۱ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) (۱۵) اخیراً کاربرد کمتری پیدا کرده‌اند (۹). برخی مطالعات نشان دادند که باکتری‌ها به غلظت بالای فلزات حساس هستند (۱۹، ۱۸، ۱۱، ۶) با این حال روش‌های بیولوژیکی به علت برخی مزایا از جمله حذف غلظت‌های کم فلزات سنگین و تولید لجن سنگین‌تر (با قابلیت ته‌نشینی بالا) (۱۷)، تولید لجن با حجم کم (۱۶) و پایداری بالای رسوبات فلزی نسبت به روش‌های فیزیکوشیمیایی از جذابیت بیشتری برخوردارند (۱۷، ۲). روش‌های بیولوژیکی برای حذف یون‌های فلزی و سولفات به‌طور کلی دو نوع هستند. روش‌های غیرفعال که شامل وتلندها و برکه‌های بی‌هواری (۹، ۲۰) هستند و روش‌های بیورآکتور که در چندین مطالعه مورد استفاده قرار گرفته‌اند شامل رآکتور بستر پرشده بی‌هواری با جریان رو به بالا (UAPB) (۱)، رآکتور بی‌هواری با بستر لجن بالارو (UASB) (۲۰، ۲۱)، رآکتور بستر ثابت (۱۴، ۲) و رآکتور با تانک اختلاط نیمه پیوسته (۲) می‌باشند. رآکتورهای بیولوژیکی با وجود اینکه نیاز به نگهداری زیادی دارند ولی با داشتن مزیت‌هایی مانند حذف پایدار و همزمان سولفور و فلزات سنگین (۲۰، ۹، ۵) و امکان بازیافت فلزات با ارزش (۲۰، ۱۷، ۹)، نیاز به مساحت کم، کنترل راحت و پیش‌بینی بهتر فرآیند (۲۰) در حال حاضر به عنوان مناسب‌ترین روش تلقی می‌گردند (۹). در سال‌های گذشته پیشرفت‌های چشمگیر و تحقیقات گسترده‌ای جهت حذف فلزات سنگین از جمله مس با استفاده از  $SRB_s$  انجام گرفته است (۲۳، ۲۲، ۱۷، ۵، ۲، ۱)

(۷، ۲). از منابع اصلی فلزات سنگین می‌توان به فعالیت‌هایی نظیر آبکاری (۸، ۶)، معدن‌کاری، استخراج و ذوب فلزات، تولید آفت کش (منبعی مهم برای مس) (۶)، کارخانجات تولید رنگ و مواد شیمیایی (۹) پتروشیمی، مواد دارویی و تولیدکننده‌های کالاهای خانگی (الکترونیکی) (۸) اشاره کرد. غلظت مس خروجی از صنایع می‌تواند خیلی بیشتر باشد. میزان آن در پساب صنایع معدن‌کاری در کشور صربستان حدود ۱۵۵۰ میلی‌گرم بر لیتر گزارش شده است (۱۰). وجود سولفات در فاضلاب‌های خانگی و صنعتی باعث ایجاد شرایط اسیدیته در مجاری فاضلاب‌روها شده که این امر باعث خوردگی لوله‌های جمع‌آوری فاضلاب می‌شود (۲). باکتری‌های چرخه سولفور به دو نوع کلی شامل باکتری‌های احیاء کننده سولفات ( $SRB_s$ ) و باکتری‌های اکسید کننده سولفید ( $SOB_s$ )<sup>۱</sup> طبقه‌بندی می‌شوند.  $SOB_s$  نقش مهمی در کاهش سولفید و  $SRB_s$  نیز در کاهش سولفات و فلزات سنگین از محیط زیست از اهمیت به‌سزایی برخوردارند (۹). باکتری‌های  $SRB$  جزء باکتری‌های شیمیوهمترتروف (از ترکیبات آلی ساده بعنوان منبع کربن استفاده می‌کنند) و بی‌هواری مطلق هستند (۱۱، ۲). حذف فلزات سنگین توسط  $SRB_s$  طی سه مرحله کلی انجام می‌گیرد. در مرحله اول سولفات به عنوان پذیرنده نهایی الکترون توسط این باکتری‌ها احیاء شده و به سولفید تبدیل می‌شود. در مرحله دوم سولفید ناشی از احیاء سولفات با فلز سنگین واکنش داده و رسوب فلزی تشکیل می‌شود و سرانجام در مرحله سوم سولفید اضافی توسط باکتری‌های اکسید کننده سولفید و یا با اضافه کردن دستی عامل اکسید کننده، به سولفور عنصری ( $S^0$ ) تبدیل می‌گردد (۱۳، ۱۲). واکنش‌ها از این قرارند (۱۴):



<sup>1</sup> Sulfide-Oxidizing Bacteria

درصد تخلخل بستری در حدود ۶۷٪ و حجمی از فاضلاب که می‌توانست درون آن جای بگیرد ۵ لیتر بود. در مواقع تخلیه رآکتور و به منظور جلوگیری از ورود اکسیژن از گاز بی اثر (نیتروژن) استفاده شد. گاز تولیدی توسط باکتری‌ها در طی فرآیند، از طریق لوله‌ای مجزا به دو ظرف شیشه‌ای یک لیتری که به یکدیگر متصل بودند (ظروف مرتبطه پاسکال) وارد می‌شد. یکی از ظروف شیشه‌ای با آب مقطر حاوی ۳۰ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ و ۲۰۰ گرم سولفات سدیم (جهت جلوگیری از خروج گاز  $S_2H$  از محلول آبی) پر شد. ظرف دیگر که بر حسب میلی لیتر مدرج بود در ارتفاع پایین‌تری نسبت به قبلی تعبیه گردید، بنابراین به علت اختلاف ارتفاع بین دو ظرف شیشه‌ای، در مواقع تولید گاز، این محلول معادل حجم گاز تولیدی وارد ظرف مدرج می‌شد. از این طریق حجم گاز تولیدی توسط باکتری‌ها بر حسب میلی لیتر برآورد می‌شد. شماتیک بیورآکتور در شکل ۱ نشان داده شده است.

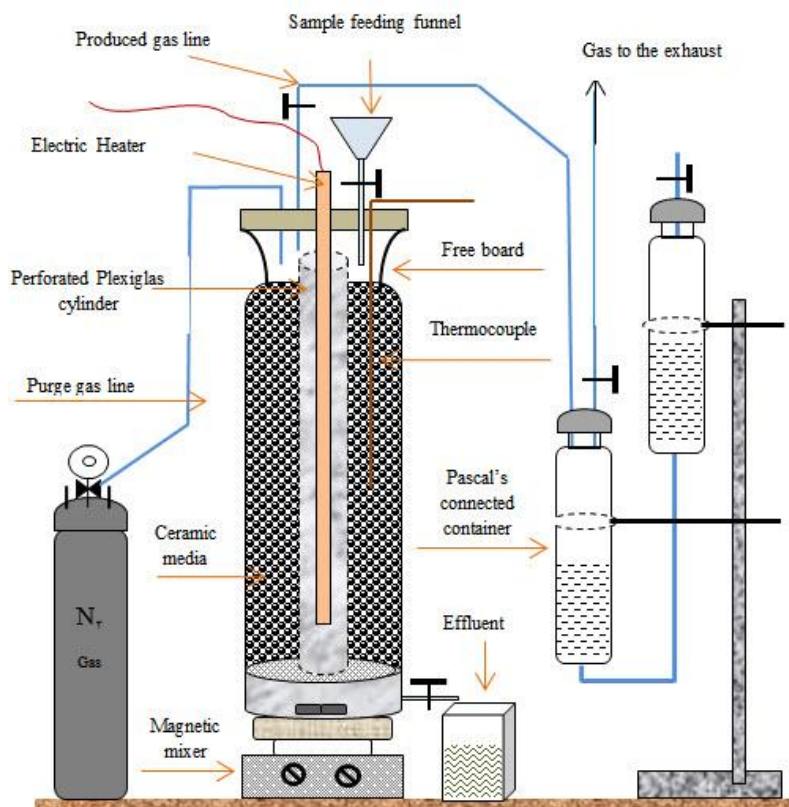
کارایی بیورآکتور حاوی SRB در احیای بی‌هوازی سولفات و بررسی میزان حذف مس به همراه پارامترهای دیگر می‌باشد.

## روش کار

این تحقیق یک مطالعه تجربی در مقیاس آزمایشگاهی بوده که بر روی پساب مصنوعی انجام شد.

## راه اندازی بیورآکتور

بمنظور ساخت رآکتور بی‌هوازی از یک ظرف شیشه‌ای به حجم ۱۰ لیتر استفاده شد. یک لوله سوراخ‌دار از جنس پلی اتیلن و به قطر ۵ سانتی متر به صورت ستونی در وسط رآکتور تعبیه شد. المنت حرارتی به منظور تامین دمای ۳۲ تا ۳۵ درجه سانتیگراد در داخل این لوله قرار داده شد. همچنین اختلاط محتویات داخل رآکتور برای جلوگیری از ته‌نشینی رسوبات تشکیل شده بوسیله میله همزن مغناطیسی انجام گردید. درون محفظه اصلی از پکینگ‌های سرامیکی تا ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر پر شد.



شکل ۱. شماتیک بیورآکتور استفاده شده برای حذف سولفات و ترسیب مس

تأمین SRB<sub>s</sub> و تهیه محلول

جهت راه اندازی و فعال نمودن رآکتور بی‌هوازی از لجن حوضچه‌های ته‌نشینی ثانویه تصفیه خانه فاضلاب شهری، به عنوان منبعی برای باکتری‌های احیاکننده سولفات استفاده گردید. حدود ۱۰۰ میلی لیتر از این لجن با ۵ لیتر آب مقطر (گنجایش مفید رآکتور) ترقیق شد. به منظور تقویت رشد SRB<sub>s</sub> در لجن فاضلاب واقعی از مواد تکمیلی شامل  $(1\text{g/L}) \text{NH}_4\text{Cl}$ ،  $(2\text{g/L}) \text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ،  $(0.5\text{g/L}) \text{K}_2\text{HPO}_4$ ،  $(1\text{g/L}) \text{CaCO}_3$ ،  $(0.1\text{g/L}) \text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ،  $(2\text{g/L}) \text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (ناچیز) استفاده گردید. از سولفات کلسیم ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) به عنوان پذیرنده نهایی الکترون و از لاکتات سدیم به عنوان منبع انرژی استفاده گردید. محلول لاکتات سدیم با اضافه کردن سود ۶ نرمال به اسید لاکتیک ۸۵٪ تا رسیدن به pH حدود ۷/۴ (با استفاده از دستگاه pHسنج الکترونیکی مدل ۱۵۰۰-Cyberscan) تهیه گردید. سولفات کلسیم به میزان ۱ g/L و لاکتات سدیم در حدود ۸mg/L به محلول تهیه شده افزوده شده و با استفاده از سود ۱ N، pH محلول نهایی در ۷/۴ (مناسب برای رشد SRB<sub>s</sub>) تنظیم گردید.

## روند آزمایش

راه اندازی رآکتور در مدت ۲۰ روز (در دوره‌های ۴۸ ساعته) انجام شد. این مدت بر اساس تشکیل لایه بیوفیلم با ضخامت مناسب و حداکثر تولید گاز (در حدود ۱۴۵ ml/l) اعمال شد. بعد از آماده شدن سیستم و فعال شدن آن، غلظت‌هایی از فلز مس وارد رآکتور شد. برای تطابق یافتن SRB<sub>s</sub> به غلظت‌های مس، در شروع عملیات غلظت ۵mg/L از کلرور مس تهیه شده و برای زمان ۲۴ ساعت بکار گرفته شد. در طی روزهای بعدی این غلظت به ۱۰، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر افزایش داده شد. با این وجود بدلیل افت ناگهانی راندمان پس از افزایش غلظت از ۶۰ به ۷۵ بنابراین غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر بعنوان غلظت تثبیت فرایند انتخاب

گردید و به منظور بررسی تأثیر زمان ماند و دستیابی به حداقل زمان ماند همراه با راندمان قابل قبول، عملیات در این غلظت در زمان‌های ماند ۲۰، ۱۶، ۱۲، ۸ و ۴ ساعت نیز هر کدام با دوبار تکرار انجام شد و میانگین آن‌ها به عنوان راندمان واقعی استفاده گردید.

## نمونه برداری و آزمایش

تمامی متغیرها مطابق با کتاب روش‌های استاندارد آزمایش‌های آب و فاضلاب (متد شماره ۳۵۰۰) مورد سنجش قرار گرفتند (۲۴). به منظور اندازه‌گیری پارامترهای محلول و آنالیز رسوبات، در هر نمونه‌برداری، ۵۰ میلی لیتر از پساب از مرکز راکتور استخراج و پس از صافسازی با صافی غشایی ۰/۴۵ میکرون برای آنالیز پارامترهای تعیین شده، سولفات باقیمانده با استفاده از روش کدورت سنجی با اسپکتروفتومتر تعیین مقدار گردید. مقدار مس باقیمانده با استفاده از دستگاه جذب اتمی (کمپانی Perkin Elmer) آنالیز شد. علاوه بر آن میزان سولفیت ( $\text{SO}_3$ ) و سولفید ( $\text{S}^{2-}$ ) با استفاده از روش یدومتری، کل جامدات معلق (TSS) با استفاده از گراویمتری، جامدات معلق آلی (VSS) به روش کوره ای و وزن سنجی، قلیائیت به روش پتانسیومتری، هدایت الکتریکی (EC) بوسیله هدایت سنج الکتریکی، pH به روش pH متر و در نهایت میزان اکسیژن خواهی شیمیایی از طریق اکسیداسیون با بی کرومات پتاسیم تعیین مقدار گردیدند.

## یافته‌ها

میزان تزریق سولفات به نحوی تنظیم شد که غلظت سولفات در محلول بعد از مرحله تثبیت به ۱۵۰۰ mg/l برسد. با توجه مقادیر ورودی مختلفی از مس و سولفات (جدول ۱)، مشاهده می‌شود که در زمان ماند ۲۴ ساعت، میانگین درصد‌های حذف سولفات و مس به ترتیب ۹۷/۱۹ و ۹۸/۵ درصد

بوده است (شکل ۲ میانگین حذف هر دو را با هم مقایسه می کند).

حداکثر میزان کاهش COD به طور متوسط برای زمان ماند ۲۴ ساعت حدود ۲۴/۳ درصد بود که این میزان در زمان ماند ۴ ساعت به ۱۴/۹۵ درصد کاهش یافت (شکل ۲-D).

میزان افزایش قلیائیت (با قلیائیت ورودی  $1200 \text{ mg/L}$ ) در زمان های ماند مختلف متفاوت بود. بطوری که در زمان ماند ۲۴ ساعت به میزان ۸۴/۶ درصد و در ۴ ساعت ۱۳/۷ درصد افزایش داشته است. جدول ۱ و شکل ۲-E، مقادیر افزایش قلیائیت

در پساب تصفیه شده خروجی از رآکتور را نشان می دهد.

مقادیر TSS و VSS ورودی بعد از تثبیت میکروارگانیزم ها به غلظت های مس، به ترتیب در حدود ۱۳۵۰ و ۶۰ میلی گرم بر لیتر بود. میانگین کاهش TSS و VSS با غلظت های ورودی ذکر شده برای زمان های ماند مختلف در جدول ۱ آمده است. بطوری که ملاحظه می شود میزان حذف در زمان ماند ۲۴ ساعت به ترتیب برای TSS و VSS حدود ۹۹/۱۵ و ۸۷/۷ درصد و برای زمان ماند ۴ ساعت به ترتیب ۹۷/۵ و ۷۹ درصد می باشد. شکل ۲-G و ۲-H به ترتیب میزان حذف VSS و TSS را نشان می دهد.

جدول ۱. توازن سولفور در زمان های ماند مختلف پس از دوره سازش میکروبی

زمان ماند (ساعت)	H <sub>2</sub> S در خروجی (ml/l)	S در خروجی (mg/l)	SO <sub>3</sub> در خروجی (mg/l)	احیای SO <sub>4</sub> (mg/l)
۴	۴۵	۱۱۳	۴۰۹	۱۱۹۰
۸	۶۵	۱۴۷	۵۲۷	۱۳۱۲
۱۲	۹۰	۱۷۶	۶۱۲	۱۳۹۸
۱۶	۱۰۰	۱۶۱	۵۹۰	۱۴۳۲
۲۰	۱۰۸	۱۰۹	۴۹۵	۱۴۴۹
۲۴	۱۱۶	۷۵	۵۳۲	۱۴۶۸

## بحث

### حذف سولفات و مس

مقایسه یافته های این مطالعه و نتایج حاصل از مطالعات دیگر میزان حذف مس و سولفات را تأیید میکند. جونگ<sup>۱</sup> و همکاران در یک رآکتور بی هوائی با جریان بالارو و با استفاده از فعالیت باکتری های SRB میزان احیای سولفات و ترسیب فلزات سنگین را مورد مطالعه قرار دادند و مس را به میزان ۹۷/۵ درصد، ولی سولفات را به میزان کمتری (۸۲٪) حذف کردند (۱). در مطالعه ای دیگر، که در دو رآکتور مجزا یکی بدون تلقیح باکتری های SRB و دیگری با تلقیح باکتری های SRB انجام گردید، نشان دادند که میزان تشکیل رسوبات سولفید مس در رآکتوری که

حاوی باکتری های SRB است سریعتر بوده و با راندمان بالاتری در حذف مس (۹۹/۹۳٪) همراه است (۱۷). همچنین دووراک<sup>۲</sup> با استفاده از رآکتور بی هوائی و به منظور تصفیه آب آلوده در یک معدن زغال سنگ با حذف ۹۵ درصد مس، روی و نیکل نشان داد که این سیستم در حذف مس از فلزات سنگین از کارایی بالایی برخوردار است (۲۵). بنابراین می توان احتمال داد که باکتری های احیاء کننده سولفات نقش اصلی را در ترسیب فلزات سنگین به شکل سولفید فلزی دارند. با توجه به مطالعات انجام یافته از لحاظ سینتیک واکنش های شیمیایی حذف بالای مس می تواند به علت خلالت خیلی کم رسوبات سولفید مس باشد (۲۶). علت دیگر احتمالاً مربوط به

<sup>2</sup> Dvorak

<sup>1</sup> Jong

تمایل زیاد سولفید برای واکنش با مس و دیگر فلزات سنگین است. میزان حذف مس و سولفات برای زمان‌های ماند کمتر از یک روز به تدریج کمتر شده بطوری که برای زمان ماند ۴ ساعت سولفات در حدود ۷۹/۳۶ درصد و مس به میزان ۹۲/۶۶ درصد حذف شد. نتایج مطالعات دیگر نیز این روند را تأیید می‌کند (۱۷،۱). در مقایسه درصد‌های حذف مس در زمان‌های ماند مختلف ملاحظه می‌شود که میزان حذف مس در زمان ماند ۲۰ ساعت حدود ۱/۵ درصد و برای ۱۶ و ۱۲ ساعت حدود ۱/۷ درصد و برای ۸ ساعت ۲/۳ درصد کمتر از میزان حذف نسبت به زمان ماند ۲۴ ساعت است. این نشان می‌دهد که برای زمان‌های ماند نصف روز و حتی ۸ ساعت نیز راندمان حذف قابل قبولی بدست آمده است (شکل ۲). بایستی به این نکته توجه شود که افزایش میزان رسوبات سولفید فلزی می‌تواند باعث ایجاد گرفتگی در بستر رآکتور شده و در نتیجه آن با کم شدن دسترسی باکتری‌ها به سوبسترا می‌تواند باعث کاهش توانایی احیای سولفات توسط این باکتری‌ها شده و متعاقباً راندمان سیستم کاهش می‌یابد. همانطور که در شکل ۲ (A و B) ملاحظه می‌گردد در زمان ماند پایین تفاوت زیادی بین میزان حذف سولفات و مس به چشم می‌خورد ولی در زمان‌های ماند بالاتر میزان حذف این دو تقریباً به هم نزدیک است. احتمالاً علت آن مربوط به فرصت زیاد باکتری‌ها در زمان ماند بالاتر جهت احیای سولفات می‌باشد.

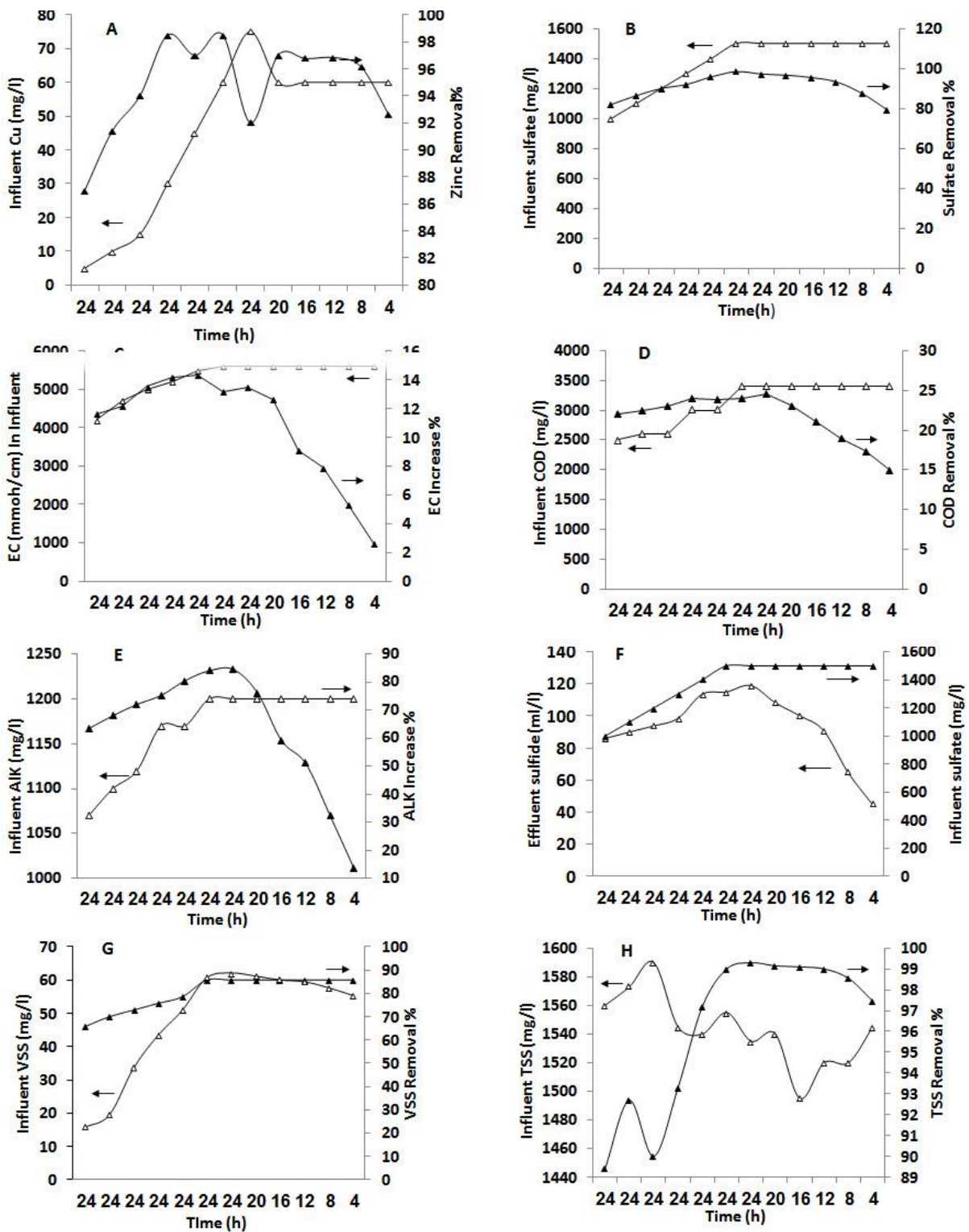
### حذف COD

با توجه به اینکه تنها منبع COD مورد استفاده لاکتات می‌باشد، مقداری از کاهش COD به تجزیه لاکتات توسط SRB‌ها نسبت داده می‌شود که به استات تبدیل می‌شود. این باکتری‌ها نمی‌توانند از استات به

عنوان منبع کربن استفاده کنند. بنابراین لازمه تجزیه استات حضور باکتری‌های تولید کننده متان (MPB<sub>s</sub>) می‌باشد. از طرفی دیگر در محیط رشد رآکتور بی‌هوایی، به علت سولفات زیاد ( $\text{COD} / \text{SO}_2 / 1$ ) احیای سولفات بر عمل متان‌زایی غلبه کرده. لذا باکتری‌های متان‌زا نمی‌توانند به خوبی فعالیت داشته باشند، در نتیجه برای COD درصد حذف کمتری حاصل می‌گردد (۲۷). البته مقادیر بدست آمده مربوط به COD کل می‌باشد بنابراین در نمونه‌های خروجی مورد آزمایش احتمال وجود جرم میکروبی که مولد COD معلق می‌باشد، وجود دارد که باعث افزایش COD خروجی می‌شود. در هر صورت با استفاده از این سیستم درصد حذف قابل قبولی برای COD حاصل نمی‌شود. شکل ۲، میزان حذف خیلی کم COD را نشان می‌دهد. مطالعات انجام یافته مؤید این مطلب است. سینگ<sup>۱</sup> و همکاران با استفاده از یک رآکتور کوچک آزمایشگاهی تلقیح شده با باکتری‌های احیاء کننده سولفات برای تصفیه همزمان سولفات، کروم (VI) و COD از پساب واقعی، میزان حذف COD را بیش از ۳۶/۲ درصد گزارش کردند. همچنین هنری<sup>۲</sup> و همکاران برای تصفیه شیرابه محل دفن زباله از SRB‌ها و متان سازها استفاده کرده و دو مسیر احیای سولفات و تولید متان را مورد مقایسه قرار دادند و به میزان ۷۰ درصد در حذف COD (در شیرابه با قدرت بالا) دست یافتند که سهم SRB‌ها در حذف آن تنها حدود ۲۰ درصد در نسبت COD/Sulfate برابر با ۱/۶ بود. بنابراین نتیجه گرفتند که مسیر احیای سولفات در تصفیه شیرابه لندفیل مناسب نمی‌باشد (۲۹).

<sup>1</sup> Singh

<sup>2</sup> Henry



شکل ۲. غلظت های ورودی و راندمان حذف مس در زمان ماند های مختلف (A)، غلظت های ورودی و راندمان حذف سولفات در زمان ماند های مختلف (B)، غلظت های ورودی و درصد افزایش هدایت الکتریکی در زمان ماند های مختلف (C)، غلظت های ورودی و راندمان حذف COD در زمان ماند های مختلف (D)، غلظت های ورودی و درصد افزایش قلیائیت در زمان ماند های مختلف (E) حجم خروجی گاز سولفید هیدروژن در مقایسه با غلظت های ورودی سولفات در زمان ماند مختلف (F)، غلظت های ورودی جامدات معلق فرار (VSS) و راندمان حذف آنها در زمان های ماند مختلف (G)، غلظت های ورودی جامدات معلق فرار (TSS) و راندمان حذف آنها در زمان های ماند مختلف (H).

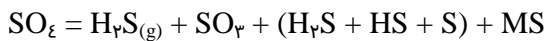
### تغییرات قلیائیت

افزایش قلیائیت نشان می دهد که در مراحل احیای سولفات توسط  $SRB_s$ ، قلیائیت تولید می شود که

ظرفیت تولید آن تابع زمان ماند است. زمان ماند خیلی کوتاه ظرفیت رآکتور را در تولید قلیائیت کاهش می دهد. قلیائیت تولید شده می تواند اسیدیته



سولفات بر حسب گوگرد و مقادیر تولیدی  $S_2H$  و سولفیت ( $SO_3$ ) و اشکال مختلف سولفید تولیدشده در محلول خروجی از رآکتور، نشانگر این است که مقادیر قابل توجهی از گوگرد به شکل سولفیدهای فلزی نامحلول از محیط آبی جدا شده و رسوب یافته است.



محلول‌های ورودی به سیستم را خنثی نماید، بنابراین برای تصفیه پساب‌هایی با اسیدیته بالا نیز می‌تواند قابل کاربرد باشد.

### موازنه سولفات

افزایش در فعالیت باکتری‌ها موجب افزایش در میزان احیای سولفات و در نتیجه افزایش غلظت سولفید گردید (جدول ۲). اگرچه میزان رسوب سولفید مس تشکیل شده اندازه‌گیری نشد ولی بررسی و مقایسه استوکیومتری مقادیر قابل حذف

جدول ۲. میانگین نتایج ورودی و خروجی مس، سولفات، COD، TSS، VSS، قلیائیت، هدایت الکتریکی و  $S_2H$  از بیورآکتور در دوره سازش میکروبی

زمان ماند (ساعت)	Cu (mg/l)		SO <sub>4</sub> (mg/l)		COD (mg/l)		TSS (mg/l)		VSS (mg/l)		ALK (mg/l)		EC (m/cm)		H <sub>2</sub> S (ml/l)
	in	eff	in	eff	in	eff	in	eff	in	eff	in	eff	in	eff	eff
۴	۶۰	۴/۴	۱۵۰۰	۳۰۹	۳۲۰۰	۲۷۲۲	۱۳۵۵	۳۴	۶۰	۱۲.۵	۱۲۰۰	۱۳۶۵	۵۶۰۰	۵۷۵۰	۴۵
۸	۶۰	۲/۳	۱۵۰۰	۱۸۸	۳۲۰۰	۲۶۴۵	۱۳۵۵	۱۹	۶۰	۱۱	۱۲۰۰	۱۵۹۲	۵۶۰۰	۵۹۰۰	۶۵
۱۲	۶۰	۱/۹	۱۵۰۰	۱۰۲	۳۲۰۰	۲۵۹۰	۱۳۵۰	۱۳	۶۰	۹	۱۲۰۰	۱۸۱۲	۵۶۰۰	۶۰۳۰	۹۱
۱۶	۶۰	۱/۹۵	۱۵۰۰	۶۸	۳۲۰۰	۲۵۲۲	۱۳۶۰	۱۲/۵	۶۰	۸/۵	۱۲۰۰	۱۹۱۰	۵۶۰۰	۶۱۱۰	۱۰۰/۳
۲۰	۶۰	۱/۸	۱۵۰۰	۵۱	۳۲۰۰	۲۴۶۰	۱۳۵۰	۱۰/۵	۶۰	۷/۵	۱۲۰۰	۲۱۱۵	۵۶۰۰	۶۳۱۰	۱۰۸
۲۴	۶۰	۱/۸	۱۵۰۰	۴۲	۳۲۰۰	۲۴۲۵	۱۳۰۰	۱۱/۳	۶۰	۷/۹	۱۲۰۰	۲۲۱۰	۵۶۰۰	۶۳۵۶	۱۱۷

in: influent, eff: effluent

احیاء کننده سولفات در حذف مس و سولفات عملکرد مناسبی داشت. با استفاده از لاکتات به عنوان منبع کربن و غلظت سولفات ورودی در حدود ۱۶۰۰-۱۵۰۰ میلی گرم بر لیتر بعد از یک دوره سازش باکتری‌ها (به مدت ۲۰ روز)، مقادیر حذف مس و سولفات در زمان‌های ماند بالاتر، بیشتر از زمان‌های ماند پایین مشاهده شد. این مطالعه نشان داد که مسیر احیای سولفات به دلیل رقابت SRBs با متان‌سازها برای مصرف سوبسترا در حذف COD عملکرد مناسبی ندارد. در طی فرآیند احیای سولفات مقداری قلیائیت تولید شد، بنابراین این سیستم برای پساب‌های با منشأ اسیدی حاوی سولفات و مس می‌تواند کاربرد داشته باشد. در عین حال روش‌های بیولوژیکی همچون مطالعه حاضر در محدوده خاصی از فلزات سنگین قابل استفاده هستند و برای

### کل جامدات معلق (TSS) و جامدات معلق فرار (VSS)

با وجود اینکه مواد معلق فرار به رآکتور اضافه نشدند ولی احتمالاً منبع VSS ورودی، ناشی از جذب لاکتات توسط مواد جامد معلق می‌باشد. مقداری از VSS در محلول خروجی ممکن است مربوط به وجود جرم‌های میکروبی باشد، ولی در هر صورت پایین بودن میزان کلی VSS در نمونه‌های خروجی ممکن است نشان‌دهنده سازش یافتن سیستم و عدم مرگ باکتریایی قابل ملاحظه و کنده نشدن آنها از بسترهای رشد چسبیده باشد.

### نتیجه گیری

در این مطالعه رآکتور بی‌هوای در مقیاس بسته آزمایشگاهی به منظور بررسی عملکرد باکتری‌های

**تشکر و قدردانی**

از حمایت‌های آزمایشگاهی گروه مهندسی بهداشت محیط دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

غلظت‌های بالاتر باکتری‌ها دچار سمیت می‌گردند که برای جلوگیری از سمیت، مدت زمان سازش زیادی را باید اعمال نمود که این موضوع از محدودیت‌های این روش محسوب می‌گردد.

**References**

- 1- Jong T, Parry DL. Removal of sulfate and heavy metals by sulfate reducing bacteria in short-term bench scale upflow anaerobic packed bed reactor runs. *Water Research*. 2003; 37(14): p. 3379-3389.
- 2- Kieu HTQ, Müller E, and Horn H. Heavy metal removal in anaerobic semi-continuous stirred tank reactors by a consortium of sulfate-reducing bacteria. *Water Research*. 2011; 45(13): p. 3863-3870.
- 3- Dave S, Damani M, Tipre D. Copper remediation by *Eichhornia* spp. and sulphate-reducing bacteria. *Journal of Hazardous Materials*. 2010; 173(1-3): p. 231-235.
- 4- Castilloa J, Lópezza RP, Caraballoa MA, Nietoa JM, Martinsd M, Costad MC, Olíase M, Ceróne JC, Tucoulou R. Biologically-induced precipitation of sphalerite-wurtzite nanoparticles by sulfate-reducing bacteria: Implications for acid mine drainage treatment. *Science of The Total Environment*. 2012; 423: p. 176-184.
- 5- Hsu HF, Jhuo YS, Kumar M, Ma YS, Lin JG. Simultaneous sulfate reduction and copper removal by a PVA-immobilized sulfate reducing bacterial culture. *Bioresource Technology*. 2010; 101(12): p. 4354-4361.
- 6- Herrera VO, León G, Banihani Q, Field JA, Alvarez RS. Toxicity of copper(II) ions to microorganisms in biological wastewater treatment systems. *Science of The Total Environment*. 2011; 412-413: p. 380-385.
- 7- Besaury L, Ouddane B, Pavissich JP, Brunauda CD, Gonzálezd B, Quillet L. Impact of copper on the abundance and diversity of sulfate-reducing prokaryotes in two chilean marine sediments. *Marine Pollution Bulletin*. 2012; 64(10): p. 2135-2145.
- 8- Lee Jc, Pandey BD. Bio-processing of solid wastes and secondary resources for metal extraction – A review. *Waste Management*. 2012; 32(1): p. 3-18.
- 9- Tang K, Baskaran V, Nemati M. Bacteria of the sulphur cycle: An overview of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries. *Biochemical Engineering Journal*. 2009; 44(1): p. 73-94.
- 10-Stankovi V, Boži D, Gorgievski M, Bogdanovi G. Heavy metal ions adsorption from mine waters by sawdust. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*. 2009; 15(4): p. 237-249.
- 11-Martins M, Faleiro ML, Barros RJ, Veríssimo AR, Barreirosd MA, Costa MC. Characterization and activity studies of highly heavy metal resistant sulphate-reducing bacteria to be used in acid mine drainage decontamination. *Journal of Hazardous Materials*. 2009; 166(2-3): p. 706-713.
- 12-Baskaran V, Nemati M. Anaerobic reduction of sulfate in immobilized cell bioreactors, using a microbial culture originated from an oil reservoir. *Biochemical Engineering Journal*. 2006; 31(2): p. 148-159.
- 13-Luptakova A, Kusnierova M. Bioremediation of acid mine drainage contaminated by SRB. *Hydrometallurgy*. 2005; 77(1-2): p. 97-102.
- 14-Pagnanelli F, Viggi CC, Cibati A, Uccelletti D, Toroa L, Palleschi C. Biotreatment of Cr(VI) contaminated waters by sulphate reducing bacteria fed with ethanol. *Journal of Hazardous Materials*. 2012; 199-200: p. 186-192.
- 15-Zhou M, Liu Y, Zeng G, Li X, Xu W, Fan T. Kinetic and equilibrium studies of Cr(VI) biosorption by dead *Bacillus licheniformis* biomass. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 2007; 23(1): p. 43-48.
- 16-Cabreraa G, Pérezb R, Gómeza JM, Ábalosb A, Cantero D. Toxic effects of dissolved heavy metals on *Desulfovibrio vulgaris* and *Desulfovibrio* sp strains. *Journal of Hazardous Materials*. 2006; 135(1-3): p. 40-46.

- 17-Jalali K, Baldwin SG. The role of sulphate reducing bacteria in copper removal from aqueous sulphate solutions. *Water Research*. 2000; 34(3): p. 797-806.
- 18-Brown NL, Rouch DA, Lee BTO. Copper resistance determinants in bacteria. *Plasmid*. 1992; 27(1): p. 41-51.
- 19-Utgikar VP, Harmon SM, Chaudhary N, Tabak HH, Govind P, Haines JR. Inhibition of sulfate-reducing bacteria by metal sulfide formation in bioremediation of acid mine drainage. *Environmental toxicology*. 2002; 17(1): p. 40-48.
- 20-Rodrigueza RP, Oliveirab GHD, Raimundib IM, Zaiat M. Assessment of a UASB reactor for the removal of sulfate from acid mine water. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2012; 74: p. 48-53.
- 21-Lenza M, Hullebuschb EDV, Hommes G, Corvinic PhFX, Lens PNL. Selenate removal in methanogenic and sulfate-reducing upflow anaerobic sludge bed reactors. *Water Research*. 2008; 42(8): p. 2184-2194.
- 22-Baia H, Kanga Y, Quana H, Hana Y, Feng Y. Treatment of copper wastewater by sulfate reducing bacteria in the presence of zero valent iron. *International Journal of Mineral Processing*. 2012; 112-113: p. 71-76.
- 23-Alvarez RS, Hollingsworth J, Zhou MS. Removal of Copper in an Integrated Sulfate Reducing Bioreactor-Crystallization Reactor System. *Environmental science & technology*. 2007; 41(4): p. 1426-1431.
- 24-Association APH, Water Environment Federation. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 20th Edition-4500-NO3-D nitrate Electrode Method, 1998, American Public Health Association: Washington, DC.
- 25-Dvorak DH, Hedin RS, Edenborn HM, McIntire PE. Treatment of metal-contaminated water using bacterial sulfate reduction: Results from pilot-scale reactors. *Biotechnology and bioengineering*. 2004; 40(5): p. 609-616.
- 26-Machemer SD, Wildeman TR. Adsorption compared with sulfide precipitation as metal removal processes from acid mine drainage in a constructed wetland. *Journal of contaminant hydrology*. 1992; 9(1): p. 115-131.
- 27-McCartney DM, Oleszkiewicz JA. Competition between methanogens and sulfate reducers: effect of COD: sulfate ratio and acclimation. *Water environment research*. 1993; 65(5): p. 655-664.
- 28-Singha R, Kumara A, Kirroliia A, Kumarb R, Yadava N, Bishnoia NR, Lohchab RK. Removal of sulphate, COD and Cr(VI) in simulated and real wastewater by sulphate reducing bacteria enrichment in small bioreactor and FTIR study. *Bioresource Technology*. 2011; 102(2): p. 677-682.
- 29-Henry JG, Prasad D. Anaerobic treatment of landfill leachate by sulfate reduction. *Water Science and Technology*. 2000; 41(3): p. 239-246.