Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:29 +0430 on Sunday July 22nd 2018

مقاله پژوهشی

جداسازی و شناسایی میکروارگانیسم‌های غالب موجود در لجن فعال واحد تصفیه پساب ABS و بررسی پتانسیل تجزیه بیولوژیکی اکریلونیتریل

زهرا اکبری[۱]، محمد شاکرخطیبی[*۲]، محمد مسافری[۳]، نجیبه اصل رهنمای اکبری[٤]، زهره شیری[٥]، محمدرضا فرشچیان[٦]

تاریخ دریافت ۱۳۹۵/۰۱/۳۱ تاریخ پذیرش ۱۳۹۵/۰٤/۰۱

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: اکریلونیتریل به‌عنوان ماده اولیه اصلی در تولید رزین ABS در صنایع پتروشیمی کاربرد دارد و به‌عنوان یکی از آلاینده‌های پساب خروجی فرایند تولید ABS مطرح می‌باشد. با توجه به اهمیت کاربرد سیستم‌های بیولوژیکی در تصفیه این پساب، این مطالعه باهدف جداسازی و شناسایی میکروارگانیسم‌های غالب موجود در واحد بیولوژیکی تصفیه پساب ABS و ارزیابی پتانسیل تجزیه بیولوژیکی اکریلونیتریل انجام شده است.

مواد و روش کار: ساختار جمعیت میکروبی با ۸ نوبت نمونه‌برداری از حوض هوادهی بررسی گردید. بدین منظور، از محیط‌های کشت PCA، R2A، سابروزدکستروز آگار و رزبنگال به‌منظور کشت عمومی باکتری‌ها و قارچ‌ها استفاده شد. به‌منظور شناسایی جنس باکتری‌ها از آزمون‌های بیوشیمیایی و برای شناسایی قارچ‌ها از کشت روی لام استفاده شد. پتانسیل تجزیه بیولوژیکی اکریلونیتریل، از طریق تعیین غلظت اکریلونیتریل، اکریلامید و اکریلیک‌اسید با استفاده از کروماتوگرافی گازی (GC) ارزیابی گردید.

یافته‌ها: از مجموع ۲۰ باکتری جداسازی‌شده، ۷ جنس متعلق به نایسریا، موراکسلا، آلکالیژنز، باسیلوس، سودوموناس، شیگلا و استافیلوکوکوس بوده است. قارچ‌های شناسایی‌شده نیز شامل آسپرژیلوس، کلدوسپوریوم، تریکودرما، کریزسپوریوم و پنی‌سیلیوم بوده است. نتایج بررسی حذف اکریلونیتریل نشان‌دهنده کاهش ۷۱ درصدی این آلاینده در واحد بیولوژیکی بوده است. غلظت اکریلیک‌اسید به‌عنوان یکی از محصولات نهایی تجزیه اکریلونیتریل از ۳۹ mg/l در ورودی به ۹۴ mg/l در خروجی افزایش یافته و غلظت اکریلامید در طول واحد تصفیه تقریباً ثابت بوده است.

بحث و نتیجه‌گیری: باکتری و قارچ غالب در واحد بیولوژیکی به‌ترتیب به‌عنوان سودوموناس و آسپرژیلوس شناسایی شد. در این میان، جنس‌های *Alcaligenes*، *Pseudomonas*، *Bacillus* و *Moraxella* به‌عنوان باکتری‌های نیتریفایر هتروترف شناسایی شده‌اند که توانایی تجزیه ترکیبات نیتروژن‌دار ازجمله اکریلونیتریل را دارند.

کلیدواژه‌ها: اکریلونیتریل بوتادین استایرن، لجن فعال، فاضلاب صنعتی، ساختار میکروبی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هفتم، شماره پنجم، ص ۳۸۳-۳۷۵، مرداد ۱۳۹۵

آدرس مکاتبه: دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تلفن: ۳۳۳۵۵۹۵۲-۰۴۱

Email: shakerkhatibim@tbzmed.ac.ir

مقدمه

تولید رزین‌های اکریلونیتریل بوتادین استایرن (ABS) منجر به تولید فاضلاب حاوی ترکیبات آلی نیتروژن‌دار شده و در صورت عدم تصفیه مناسب، ممکن است باعث بروز آلودگی شدید محیط زیست گردد (۱،۲). اکریلونیتریل به‌عنوان ماده اولیه اصلی در تولید رزین ABS به‌طور وسیعی در فرایندهای صنعتی و تجاری مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ترکیب، یک آلاینده فرار با نقطه جوش ۶۵ °C می‌باشد و از سوی آژانس حفاظت محیط‌زیست ایالات‌متحده

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

[۲] دکترای مهندسی محیط زیست، دانشیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تبریز(نویسنده مسئول)

[۳] دکترای مهندسی بهداشت محیط، استاد دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

[٤] کارشناس ارشد انگل‌شناسی، مربی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

[٥] کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه الزهرا

[٦] کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:29 +0430 on Sunday July 22nd 2018

(USEPA) در فهرست ترکیبات سرطان‌زا برای انسان طبقه‌بندی شده است(۳). انتشار این ترکیب از فرایندها و فاضلاب صنعتی به شکل بخار و مایع است و در صورت مواجهه انسان با غلظت‌های ۲/۵-۵ mg/m^3، در درازمدت باعث کاهش شدید گلبول‌ها و هموگلوبین خون می‌شود (۴).

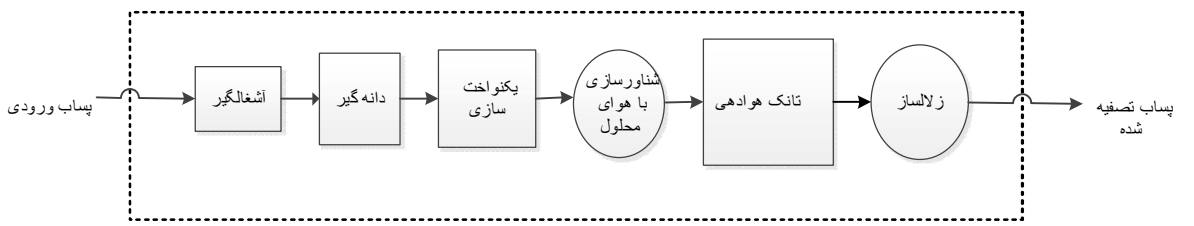
فرایندهای تصفیه زیستی به‌عنوان یک گزینه اقتصادی و سازگار با محیط زیست به‌طور متداول در تصفیه فاضلاب واحدهای تولید رزین ABS مورد استفاده قرار گرفته‌اند(۵). با توجه به تنوع زیاد آلاینده‌ها و وجود ترکیبات سمی در فاضلاب‌های صنعتی، میکروارگانیسم‌هایی که توانایی سازگارشدن با یک آلاینده را داشته باشند، در محیط غالب شده، نقش اساسی را در تصفیه آن آلاینده ایفا خواهند کرد و این سازگاری باعث افزایش قابل‌توجهی در سرعت تجزیه زیستی و کارایی سیستم تصفیه خواهد شد. در این راستا، تجزیه زیستی اکریلونیتریل در فاضلاب توسط برخی از محققان با استفاده از گونه‌های باکتریایی ازجمله آرتروباکتر، کورینه‌باکتریا، نوکاردیا و سودوموناس (۶)، رودوکوکوس(۷) اسیدووروکس و کوماموناس آزمونوسترونی(۸) و اسینتوباکتر (۹) گزارش شده است. در تحقیقات دیگر، برخی از این گونه‌ها به‌طور موفقیت‌آمیزی برای حذف اکریلونیتریل از خاک(۱۰) و فاضلاب(۸, ۹) مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

به‌منظور بررسی سرعت تجزیه زیستی اکریلونیتریل، تحقیقات دیگری با اعمال غلظت‌های مختلف این آلاینده انجام شده است که در این میان می‌توان به حذف کامل اکریلونیتریل با غلظت اولیه ۲۰۰۰ mg/l در مدت ۱۴۰ ساعت با استفاده از راکتور زیستی ناپیوسته هوازی حاوی محیط باکتریایی مخلوط(۱۱) تجزیه اکریلونیتریل تا غلظت ۲۷۹ mg/l با استفاده از فرایند دنیتریفیکاسیون در شرایط فاقد اکسیژن (Anoxic) با بهره‌گیری از گونه‌های اسیدووروکس فاسیلیس‌بی (*Acidovorax facilis B*) و سودوموناس نوتیکا(*Pseudomonas nautica*) (۱۲)، حذف کامل اکریلونیتریل در شرایط هوازی تا غلظت‌های ۴۰۰ و ۸۸۹ mg/l به‌ترتیب از فاضلاب واقعی و مصنوعی واحد ABS و شناسایی باسیل گرم منفی AAS6 (۱۳) اشاره نمود. در یکی از مطالعات محدود انجام شده در این زمینه در ایران، شاکرخطیبی و همکاران کارایی میکروارگانیسم‌های سازگارشده حاصل از لجن فعال واحد تصفیه فاضلاب پتروشیمی را در حذف اکریلونیتریل موردبررسی قرار داده و ضمن جداسازی و شناسایی گونه غالب باکتریایی متعلق به گاماپروتئوباکتریا با عنوان سودوموناس پوتیدا، بازده حذف اکریلونیتریل از پساب مصنوعی واحد ABS را در محدوده ۳۰ تا ۹۸/۶ درصد در غلظت‌های اولیه ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ mg/l اکریلونیتریل گزارش کرده‌اند (۱۴).

با توجه به اینکه ساختار جمعیت میکروبی لجن فعال و فعالیت میکروارگانیسم‌ها وابسته به طبیعت و نوع هیدروکربن‌های در دسترس، ترکیبات مغذی و دیگر شرایط محیطی ازجمله pH، دما، اکسیژن محلول، اختلاط سیستم و ساختار واحد بیولوژیکی می‌باشد (۱۵, ۱۶)، شناسایی ساختار میکروبی فعال موجود در یک سیستم تصفیه می‌تواند به‌منظور به‌روزرسانی طراحی و بهره‌برداری سیستم‌های تصفیه مورد استفاده قرار گیرد (۱۷). در راستای ارزیابی عملکرد واحد تصفیه بیولوژیک پساب واحد ABS، این مطالعه باهدف جداسازی و شناسایی میکروارگانیسم‌های فعال موجود در سیستم لجن فعال این واحد تصفیه پساب در پتروشیمی تبریز انجام شده است. به‌علاوه، پتانسیل تجزیه بیولوژیک اکریلونیتریل در این واحد تصفیه موردبررسی قرار گرفته است.

مواد و روش کار

واحد تولید رزین ABS با ظرفیت تولید ۳۵۰۰۰ تن در سال یکی از واحدهای مهم شرکت پتروشیمی تبریز محسوب می‌شود. پساب خروجی از این واحد توسط یک سیستم پیش‌تصفیه به روش لجن فعال (شکل ۱) تصفیه‌شده و پساب خروجی واحد پیش‌تصفیه به‌منظور تصفیه تکمیلی به واحد بازیافت مرکزی مجتمع هدایت می‌شود. خصوصیات پساب خروجی از واحد تولید ABS در جدول ۱ ارائه شده است.



شکل (۱): فلودیاگرام واحد پیش تصفیه پساب واحد ABS

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:29 +0430 on Sunday July 22nd 2018

جدول (۱): خصوصیات پساب خروجی از واحد تولید ABS

پارامتر	واحد	مقدار
Q	m^3/d	۵۸ ± ۴۶۹
دما	°C	۲/۹ ± ۳۴/۴۶
pH		۰/۰۱۶ ± ۶/۳۷
COD	mg/1	۴۱۴ ± ۱۳۴۵
BOD5	mg/1	۴۷۳ ± ۷۸۳
TSS	mg/1	۵۷۴ ± ۶۴۹
اکریلونیتریل	mg/1	۳۱۴
اکریلامید	mg/1	۳۸
اکریلیک اسید	mg/1	۸/۸
نیتروژن آمونیاکی	mg/1	۳۵ ± ۵۴
TKN	mg/1	۱۶۴

نمونه‌برداری مرکب ساعتی متناسب با دبی (ترکیب ۸ ساعته) در ۸ نوبت طی ۶ ماه مطابق با روش‌های استاندارد نمونه‌برداری آب و فاضلاب انجام شده است. نمونه‌برداری از لجن فعال به‌منظور تعیین غلظت MLSS و MLVSS و بررسی ساختار میکروبی انجام شده است. همچنین به‌منظور بررسی پتانسیل حذف بیولوژیکی اکریلونیتریل، نمونه‌برداری از ورودی و خروجی واحد بیولوژیکی انجام شده است. در تمامی نمونه‌ها، پارامترهای اکسیژن موردنیاز بیوشیمیایی (BOD5)، اکسیژن موردنیاز شیمیایی (COD)، کل نیتروژن کجدال (TKN)، نیتروژن آمونیاکی و سیانید بر اساس روش‌های استاندارد آزمایش‌های آب و فاضلاب اندازه‌گیری شده است(۱۸). دما، DO و pH به‌صورت لحظه‌ای با استفاده از دستگاه‌های پرتابل ترمومتر، DO متر مدل (AQUALYTIC - AL20OXI) و pH متر مدل (EDT RE 357-Microprocessor) در محل اندازه‌گیری شده و به‌منظور تعیین مقادیر MLSS و MLVSS از کاغذ صافی فایبرگلاس با قطر منافذ ۰/۴۵ µ استفاده شده است. غلظت اکریلونیتریل، اکریلامید و اکریلیک‌اسید با استفاده از کروماتوگرافی گازی مدل (Varian CP 3800) مجهز به آشکارساز FID و ستون مویی (Capillary Column: CP- WAX 52 CB 25m×0.32mm×1.2µm) تعیین شده است.

به‌منظور انجام آزمایش‌های جداسازی و شناسایی میکربی، نمونه‌های لجن فعال با استفاده از بطری‌های استریل از حوض هوادهی برداشته شده و در دمای ۴°C به آزمایشگاه منتقل گردید. به‌منظور شمارش باکتری‌های هتروتروف هوازی از روش‌های کشت گسترده و کشت بشقابی استفاده شد. شمارش سلول‌های میکروبی با روش کشت گسترده در محیط‌های کشت PCA، R2A، سابروز دکستروز آگار و RB انجام شد. بدین منظور، ۱۰ ml از دوغاب لجن فعال برداشته شده و به ۹۰ ml محلول بافر فسفات اضافه شده و به‌صورت سریالی در همان بافر فسفات، ۱۰ برابر رقیق‌سازی شد. مقادیر یکسان (۰/۱ ml) به‌منظور کشت هتروتروف‌ها بر روی محیط کشت غنی از مواد غذایی PCA و محیط کشت متوسط مواد غذایی R2A و برای کشت قارچ‌ها از محیط کشت RB و سابروز دکستروز آگار استفاده شد. تعداد کلنی‌های تشکیل‌شده بر روی هر یک از محیط‌ها برای باکتری‌های هتروتروف پس از ۲ روز انکوباسیون در ۳۷ °C و در مورد قارچ‌ها پس از ۷ روز انکوباسیون در ۲۰ °C شمارش شد. سپس کلنی‌های متفاوت از محیط‌های کشت انتخاب شده و بر روی محیط کشت نوترینت آگار به‌منظور خالص‌سازی کشت داده شد. برای شناسایی باکتری‌های جداسازی شده، روش‌های استاندارد شناسایی باکتری‌ها مورد استفاده قرار گرفت(۱۹). به‌منظور شناسایی قارچ‌ها نیز از کشت روی لام و شفاف‌سازی با محلول لاکتوفنل‌کاتن بلو استفاده شد(۲۰, ۲۱).

یافته‌ها

نتایج حاصل از اندازه‌گیری‌های انجام شده بر روی پساب ورودی به واحد بیولوژیکی و لجن فعال داخل این واحد در جدول ۲ ارائه شده است. بر اساس نتایج، مقدار pH در تمامی نمونه‌ها در محدوده خنثی بوده که به‌دلیل وجود واحد خنثی‌سازی قبل از واحد بیولوژیکی می‌باشد. همچنین، میانگین مقادیر غلظت اکسیژن محلول نمونه‌ها نیز ۳ mg/l بوده که برای انجام واکنش‌های تجزیه بیولوژیکی هتروتروفیک و نیتریفیکاسیون غلظت مناسبی محسوب می‌شود.

جدول (۲): ویژگی‌های پساب و لجن فعال در واحد بیولوژیکی

پارامتر	واحد	مقدار
DO	mg/1	± ۳/۰۴
دما	°C	۲/ ۸± ۳۱/۲
pH	---	± ۷/۰۵
COD	mg/1	۴۷ ± ۶۳۸
BOD5	mg/1	۴۷ ± ۲۳۷
MLSS	mg/1	± ۱۸۱۶
MLVSS	mg/1	۱۴۰۸

بر اساس نتایج بررسی میکروبی، پس از کشت اولیه نمونه‌ها، تعداد زیادی از کلنی‌های باکتریایی بر روی پلیت‌ها در طی ۴۸

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:29 +0430 on Sunday July 22nd 2018

ساعت انکوباسیون رشد کرده و با انجام آزمایش‌های تکمیلی و اختصاصی و خالص‌سازی کلنی‌های تشکیل شده، از مجموع ۲۰ جنس باکتری جداسازی شده، ۷ جنس شامل نایسریا، موراکسلا، آلکالیژنز، باسیلوس، سودوموناس، شیگلا و استافیلوکوکوس شناسایی شدند. اطلاعات مربوط به باکتری‌های جداسازی‌شده در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول (۳): باکتری‌های جداسازی‌شده از لجن فعال

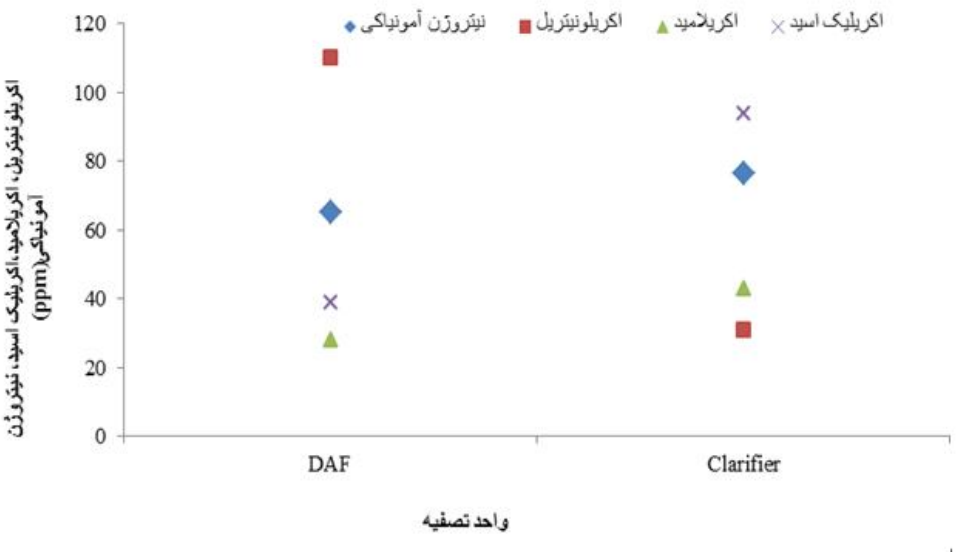
جنس	تعداد کلنی‌های جداشده	درصد از کل جداسازی
شیگلا	۱۰۵	۲۴/۹
نیسیریا	۱۱۰	۲۶/۱
سودوموناس	۱۳۱	۳۱/۱
آلکالیژنز	۲۱	۴/۹
استافیلوکوکوس	۲۳	۵/۵
موراکسلا	۱۳	۳/۲
باسیلوس	۱۸	۴/۳
کل	۴۲۱	۱۰۰

نتایج کشت قارچها حاکی از شناسایی قارچهای آسپرژیلوس، کلدوسپوریوم، تریکودرما، کریزسپوریوم و پنی‌سیلیوم بوده است. نتایج حاصل از جداسازی و شناسایی قارچها در جدول ۴ ارائه شده است.

جدول (۴): قارچهای جداسازی شده از لجن فعال

جنس	تعداد کلنی‌های	درصد از کل
آسپرژیلوس	۳۶	۶۲
تریکودرما	۶	۱۰/۳
کلدوسپوریوم	۱۲	۲۰/۶
کریزسپوریوم	۲	۳/۴۴
پنی سیلیوم	۲	۳/۴۴
کل	۵۸	۱۰۰

به‌منظور بررسی پتانسیل حذف اکریلونیتریل و مکانیسم تجزیه بیولوژیکی و تبدیل این ترکیب به محصولات میانی و نهایی در واحد بیولوژیکی، آنالیز پارامترهای موردنیاز در پساب ورودی و خروجی از واحدهای مختلف تصفیه ازجمله واحد بیولوژیکی انجام شده است. تغییرات پارامترهای اکریلونیتریل، اکریلامید، اکریلیک اسید و آمونیاک در مراحل مختلف تصفیه در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل(۲): تغییرات غلظت اکریلونیتریل، اکریلامید، اکریلیک اسید و آمونیاک در واحد لجن فعال

اکریلیک اسید و آمونیاک به‌عنوان محصولات نهایی تجزیه بیولوژیکی اکریلونیتریل و اکریلامید به‌عنوان محصول میانی تجزیه اکریلونیتریل می‌باشند. نتایج ارائه شده در شکل ۲ نشان‌دهنده افزایش غلظت اکریلیک اسید و آمونیاک در واحد بیولوژیکی بوده که این امر همزمان با کاهش غلظت اکریلونیتریل رخ داده است. مقادیر غلظت اکریلامید در طول تصفیه تقریباً ثابت بوده که نشان‌دهنده تبدیل آن به محصولات نهایی می‌باشد.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:29 +0430 on Sunday July 22nd 2018

بحث و نتیجه‌گیری

باکتری‌ها به‌ویژه باکتری‌های گرم منفی، از اجزاء اصلی فلوک‌های لجن فعال به شمار می‌روند. بر اساس مطالعات انجام شده، صدها سوش از باکتری‌ها در لجن فعال حضور دارند که تنها بخش کوچکی از آن‌ها توسط تکنیک‌های مبتنی بر کشت قابل ردیابی هستند(۲۲). با این‌حال، تکنیک‌های کشت مورد استفاده به‌منظور شناسایی باکتری‌ها قادرند داده‌های قابل اعتماد تولید کرده و به‌دلیل ارزان بودن و در دسترس بودن این روش‌ها به‌طور معمول مورد استفاده قرار می‌گیرند(۲۳).

بر اساس تحقیقات انجام‌شده، تجزیه بیولوژیکی اکریلونیتریل در دو مرحله متوالی انجام می‌شود که نتیجه مرحله نخست، تولید اکریلامید در اثر ترشح آنزیم نیتریل هیدراتاز به‌وسیله باکتری‌های تجزیه‌کننده و حاصل مرحله دوم، تولید اکریلیک اسید و آمونیاک در اثر ترشح آنزیم آمیداز می‌باشد (۱۱). با توجه به شکل ۲ ملاحظه می‌گردد که با حذف اکریلونیتریل، غلظت اکریلیک اسید و آمونیاک افزایش یافته و غلظت اکریلامید تغییرات کم‌تری داشته است. بر اساس نتایج حاصل از جداسازی و شناسایی باکتری، از بین گونه‌های شناسایی شده، گونه‌های آلکالیژنز، سودوموناس، باسیلوس و موراکسلا متعلق به باکتری‌های نیتریفایر هتروترف می‌باشند که این باکتری‌ها اکریلونیتریل و اکریلامید را به‌عنوان منبع کربن و نیتروژن مورد استفاده قرار می‌دهند(۲۴, ۲۵).

با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۳ ملاحظه می‌گردد که ازجمله باکتری‌هایی که بر روی محیط‌های کشت مغذی رشد داده شده‌اند، دو نوع متعلق به سودوموناس و آلکالیژنز می‌باشند. بر اساس نتایج تحقیقات مشابه، توانایی سودوموناس‌ها و آلکالیژنزها در تجزیه ترکیبات آروماتیک و کلرینه مختلف گزارش شده است(۱۴, ۲۶). همچنین، پیش از این، توانایی سودوموناس در تجزیه اکریلونیتریل در تحقیقات مختلف گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به نتایج مطالعات Wang و همکاران اشاره نمود که حاکی از شناسایی سودوموناس نوتیکا به‌عنوان تجزیه‌کننده اکریلونیتریل در پساب صنعتی بوده است (۱۲). بر اساس نتایج مطالعات انجام شده توسط شاکرخطیبی و همکاران، گونه سودوموناس پوتیدا به‌عنوان تجزیه‌کننده ترکیبات اکریلونیتریل و اکریلامید گزارش شده است(۱۴). در مطالعه دیگری، توانایی گونه‌های مختلف سودوموناس در تجزیه اکریلامید و سیانید گزارش شده است (۲۷). سودوموناس‌ها جزء باکتری‌های میله‌ای شکل گرم منفی هستند که هرگز به‌صورت تخمیری عمل نمی‌کنند. بعضی از باکتری‌های مربوط به این گونه قادرند بیش از ۱۰۰ نوع ماده آلی مختلف را به‌عنوان منبع کربن مورد استفاده قرار دهند. توانایی بالای سودوموناس‌ها در تجزیه مواد آلی صرفا به‌دلیل توانایی آن‌ها در تولید آنزیم‌های کاتابولیکی نبوده بلکه، به قابلیت‌های این گونه‌ها در تنظیم مسیرهای متابولیکی مربوط می‌شود (۲۸).

از سوی دیگر، حضور باسیلوس‌ها و استافیلوکوکوس‌ها در تصفیه بیولوژیکی فاضلاب‌های صنعتی در مطالعات متعددی به اثبات رسیده است. در این راستا، توانایی گونه‌های باسیلوس در تجزیه اکریلامید(۲۹) و سیانید توسط محققین گزارش شده است. در مطالعات دیگر، گونه‌های باسیلوس پیومیلیس (۳۰)، باسیلوس سوبتیلس (۳۱) و استافیلوکوکوس سیئوری(۳۲) به‌عنوان باکتری‌های تجزیه‌کننده سیانید گزارش شده‌اند. همچنین، بر اساس نتایج تحقیقات انجام‌شده، موراکسلا به‌عنوان تجزیه‌کننده سریع اکریلامید گزارش شده است(۲۵). در خصوص توانایی شیگلا برای تجزیه آلاینده‌های موجود در پساب ABS تاکنون گزارشی ارائه نشده است.

بر اساس نتایج بررسی‌های میکروبی، تمام میکروارگانیسم‌های شناسایی‌شده در این مطالعه غیرمتحرک بوده‌اند. این نوع باکتری‌ها در پژوهش‌های متعددی به‌منظور تجزیه مواد سمی مورد استفاده قرار گرفته‌اند(۳۳). بر این اساس، Akcil و همکاران در مطالعه‌ای کارآمدی باکتری‌های غیرمتحرک در سیستم‌های تصفیه فاضلاب‌های حاوی مواد سمی را تأیید نموده‌اند (۳۴).

با وجود اینکه رشد قارچها در مقایسه با باکتری‌ها در سیستم‌های لجن فعال بسیار محدود می‌باشد، برخی از گونه‌های قارچی در فلاک‌های لجن فعال مشاهده شده‌اند(۲۲) . بر اساس نتایج تحقیقات انجام شده، بخشی از تخریب بیولوژیکی ترکیبات آلی مربوط به جذب بیولوژیکی می‌باشد که در این فرایند، ترکیبات سمی به جای تجزیه بیولوژیکی توسط میکروارگانیسم‌ها، جذب سلول‌های میکروبی می‌شوند. در این مکانیسم، سلول‌های زنده و مرده میکروبی‌تأثیرگذار بوده و قارچها به‌عنوان جاذب‌های بیولوژیکی (Biosorbent) شناخته شده‌اند. در این میان، گونه‌های آسپرژیلوس می‌توانند در جذب و تجزیه بیولوژیکی ترکیبات سیانیددار مؤثر باشند (۳۵-۳۷). بر اساس نتایج یک مطالعه، آسپرژیلوس به‌عنوان قارچ تجزیه‌کننده اکریلامید گزارش شده است(۲۹). از سوی دیگر، توانایی گونه‌های تریکودرما (۳۸) و پنی‌سیلیوم مایسنسکی (۳۹) در تجزیه ترکیبات سیانیددار گزارش شده است. در خصوص توانایی دیگر قارچهای شناسایی‌شده در این مطالعه در تجزیه بیولوژیکی و یا جذب بیولوژیکی ترکیبات اکریلونیتریل و اکریلامید، گزارشی منتشر نشده است.

در این مطالعه، به‌منظور ارزیابی حضور دیگر میکروارگانیسم‌ها در واحد بیولوژیکی لجن فعال، از مشاهدات میکروسکپی استفاده شد. نتایج این مشاهدات حاکی از حضور جنس‌های پروتوزوا و متازوا به ویژه روتیفرها بوده که نشان‌دهنده سازگاری این میکروارگانیسم‌ها

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:29 +0430 on Sunday July 22nd 2018

به پساب واحد ABS و سمیت پایین‌ترکیبات موجود در پساب بوده و این امر باعث دستیابی به راندمان تصفیه بالا در این واحد تصفیه شده است (۲۳).

باکتری‌های شناسایی شده غالبا از خانواده باسیل و کوکوباسیل‌های گرم منفی (۹۰/۳ درصد) و از نوع باکتری‌های غیرتخمیر کننده گلوگز و غیرمتحرک بودند. ۳ جنس شیگلا، سودوموناس و نایسریا در مجموع ۸۲/۲ درصد از جمعیت کل باکتری‌های شناسایی شده قابل کشت در این مطالعه را شامل شده‌اند. در این میان، سودوموناس با ۳۱/۱ درصد به‌عنوان جنس غالب و همچنین شیگلا از خانواده انتروباکتریاسه‌ها نیز با ۲۴/۹ درصد در ردیف جنس‌های غالب در نظر گرفته شده است. قارچ‌های شناسایی شده متعلق به خانواده ساپروفیت‌های هایفومیست شفاف بوده‌اند، ۶۲ درصد جمعیت قارچی متعلق به جنس آسپرژیلوس بوده و این قارچ به‌عنوان قارچ غالب شناسایی شده است. ارزیابی پتانسیل تجزیه بیولوژیکی اکریلونیتریل نشان داد که میکروارگانیسم‌های غالب موجود در لجن فعال توانایی حذف ۷۱ درصد از اکریلونیتریل ورودی به واحد بیولوژیکی را داشته‌اند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از امور بهداشت، ایمنی، محیط زیست شرکت پتروشیمی تبریز به‌دلیل حمایت‌های آنان تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References:

1. Chang C-Y, Tanong K, Chiemchaisri C, Vigneswaran S. Feasibility study of a cyclic anoxic/aerobic two-stage MBR for treating ABS resin manufacturing wastewater. Bioresour Technol 2011 ; 102(9): 5325-30.
2. Popuri SR, Chang C-Y, Xu J. A study on different addition approach of Fenton's reagent for DCOD removal from ABS wastewater. Desalination 2011;277(1): 141-6.
3. Leeuwen FXR KM, editor. Air Quality Guidelines. Copenhagen: WHO Regional publications; 2000.
4. Blum DJW, Speece RE. A database of chemical toxicity to environmental bacteria and its use in interspecies comparisons and correlations. J Water Pollut Control Fed 1991: 198-207.
5. Chang C-Y, Chang J-S, Lin Y-W, Erdei L, Vigneswaran S. Quantification of air stripping and biodegradation of organic removal in acrylonitrile-butadiene-styrene (ABS) industry wastewater during submerged membrane bioreactor operation. Desalination 2006;191(1): 162-8.
6. Watanabe I, Satoh Y, Enomoto K. Screening, isolation and taxonomical properties of microorganisms having acrylonitrile-hydrating attivity. Agric Biol Chem 1987;51(12): 3193-9.
7. Bigey F, Chebrou H, Fournand D, Arnaud A. Transcriptional analysis of the nitrile degrading operon from Rhodococcus sp. ACV2 and high level production of recombinant amidase with an Escherichia coli-T7 expression system. Appl Microbiol 1999;86(5): 752-60.
8. Wang C-C, Lee C-M, Chen L-J. Removal of nitriles from synthetic wastewater by acrylonitrile utilizing bacteria. J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng 2004;39(7):1767–79.
9. Wyatt JM, Knowles CJ. The development of a novel strategy for the microbial treatment of acrylonitrile effluents. Biodegradation 1995;6(2): 93-107.
10. Deshkar A, Dhamorikar N, Godbole S, Krishnamurthi K, Saravanadevi S, Vijay R, et al. Bioremediation of soil contaminated with organic compounds with special reference to acrylonitrile. Ann Chim 2002;93(9-10): 729-37.
11. Li T, Liu J, Bai R, Ohandja D-G, Wong F-S. Biodegradation of organonitriles by adapted activated sludge consortium with acetonitrile-degrading microorganisms. Water Res 2007;41(15): 3465-73.
12. Wang CC, Lee CM, Cheng PW. Acrylonitrile removal from synthetic wastewater and actual

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:29 +0430 on Sunday July 22nd 2018

industrial wastewater with high strength nitrogen using a pure bacteria culture. Water Sci Technol 2001;43(2): 349-54.

13. Wang C-C, Lee C-M. Denitrification with acrylamide by pure culture of bacteria isolated from acrylonitrile-butadiene-styrene resin manufactured wastewater treatment system. Chemosphere 2001;44(5): 1047-53.
14. Shakerkhatibi M GH, Ayati B, Fatehifar E. Isolation and identification of an acrylonitrile-degrading bacterium from a petrochemical activated sludge and survey of its efficiency in acrylonitrile removal. Scientific Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Research 2009;6(3-4): 119-28. (Persian)
15. Chaillan F, Lefleche A, Bury E, Phantavong Yh, Grimont P, Saliot A, et al. Identification and biodegradation potential of tropical aerobic hydrocarbon-degrading microorganisms. Res Microbiol 2004;155(7): 587-95.
16. Thangaraj K, Kapley A, Purohit HJ. Characterization of diverse Acinetobacter isolates for utilization of multiple aromatic compounds. Bioresourc Technol 2008;99(7)2488-94.
17. El-Sayed WS, Ibrahim MK, Abu-Shady M, El-Beih F, Ohmura N, Saiki H, et al. Isolation and characterization of phenol-catabolizing bacteria from a coking plant. Biosci Biotechnol Biochem 2003;67(9):2026–9.
18. Federation WE, American Public Health A. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, DC, USA: American Public Health Association (APHA); 2005.
19. Murray RGE, Costilow RN, Nester EW, Wood WA, Krieg NR, Phillips GB. Manual of methods for general bacteriology. Washington, DC: American society for microbiology; 1981. P.31.
20. Kersters K, Vancanneyt M. Bergey's manual of systematic bacteriology. 2005 [cited 2016 Aug 12]; Available from: https://biblio.ugent.be/publication/436918
21. Kreisel H, Schauer F. Mycological laboratory methods. Gustav Fischer Verlag; 1987.
22. Bitton G. Wastewater microbiology. John Wiley & Sons; 2005.
23. Shokrollahzadeh S, Azizmohseni F, Golmohammad F, Shokouhi H, Khademhaghighat F. Biodegradation potential and bacterial diversity of a petrochemical wastewater treatment plant in Iran . Bioresourc technol 2008;99(14): 6127-33.
24. Hu TL, Kung KT. Study of heterotrophic nitrifying bacteria from wastewater treatment systems treating acrylonitrile, butadiene and styrene resin wastewater. Water Sci Technol 2000;42(3-4): 315-21.
25. Jebasingh SEJ, Lakshmikandan M, Rajesh RP, Raja P. Biodegradation of acrylamide and purification of acrylamidase from newly isolated bacterium Moraxella osloensis MSU11. Int Biodeter Biodegr 2013;85: 120-5.
26. Portune K ,Prez M, Lvarez F, C G. Investigating bacterial populations in styrene-degrading biofilters by 16S rDNA tag pyrosequencing. Appl Microbiol Biotechnol 2014;99(1): 3-18.
27. Dash RR, Dash RR, Balomajumdar C. Treatment of cyanide bearing effluents by adsorption, biodegradation and combined processes: effect of process parameters. Desalin Water Treat 2014;52(16-18): 3355-66.
28. Rehm H, Reed G, editors. Biotechnology. 2nd ed: Weinheim; 1999.
29. Charoenpanich J. Removal of acrylamide by microorganisms. Edited by Yogesh B Patil and Prakash Rao; 2013.P.99.
30. Skowronski B, Strobel GA. Cyanide resistance and cyanide utilization by a strain of Bacillus pumilus. Can J Microbiol 1969;15(1): 93-8.
31. Nwokoro O, Dibua MEU. Degradation of soil cyanide by single and mixed cultures of

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:29 +0430 on Sunday July 22nd 2018

Pseudomonas stutzeri and Bacillus subtilis. Arh Hig Rada Toksikol 2014;65(1): 113-9.

32. Kowalska M, Bodzek M, Bohdziewicz J. Biodegradation of phenols and cyanides using membranes with immobilized microorganisms. Process Biochem 1998;33(2): 189-97.
33. Thuy LDT, Grigoreva TV, Yakusheva OI, Nikonorova VN, Ilinskaya ON. Optimization of petrochemical wastewater pretreatment in bioreactor with immobilized microflora. Proceedings of Kazan University Natural Sciences/Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta Seriya Estestvennye Nauki 2013;155(2).
34. Akcil A. Destruction of cyanide in gold mill effluents: biological versus chemical treatments. Biotechnol Adv 2003;21(6): 501-11.
35. Santos BAQ, Ntwampe SKO, Doughari JH, Muchatibaya G. Operating conditions for the continuous bioremediation of free cyanide contaminated wastewater using Aspergillus awamori. Water Sci Technol 2014; 69(5): 989-93.
36. Sabatini L, Ferrini C, Micheloni M, Pianetti A, Citterio B, Parlani C, et al. Isolation of a strain of Aspergillus fumigatus able to grow in minimal medium added with an industrial cyanide waste. World J Microbiol Biotechnol 2012;28(1): 165-73.
37. Patil YB, Paknikar KM. Development of a process for biodetoxification of metal cyanides from waste waters. Process Biochem 2000;35(10): 1139-51.
38. Bodzek M, Bohdziewicz J, Kowalska Mg. Immobilized enzyme membranes for phenol and cyanide decomposition. J Membrane Sci 1996;113(2): 373-84.
39. Barclay M, Hart A, Knowles CJ, Meeussen JCL, Tett VA. Biodegradation of metal cyanides by mixed and pure cultures of fungi. Enzyme Microbial Technol 1998;22(4): 223-31.

Original Article

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF DOMINANT MICROORGANISMS IN ACTIVATED SLUDGE OF ABS EFFLUENT TREATMENT PLANT AND EVALUATION OF THEIR POTENTIAL FOR ACRYLONITRILE BIODEGRADATION

Zahra Akbari[1], Mohammad Shaker Khatibi[2], Mohammad Mosaferi[3], Najibe Asl Rahnema Akbari[4], Zohre Shiri[5], Mohammad Reza Farshchian[6]*

Received: 20 Apr, 2016; Accepted: 22 June, 2016

Abstract

Background & Aims: Acrylonitrile is widely used as the main raw material in the production of Acrylonitrile butadiene styrene (ABS). It can be considered as pollutant in ABS process effluent. Since the importance of biological systems to treatment the ABS effluents, this study aimed to identify the dominant microorganisms in biological wastewater treatment plant and to evaluate the potential for biodegradation of acrylonitrile.

Materials & Methods: Microbial populations in the biological unit were examined during 8 runs of sampling. The culture media including PCA, R2A, Sabouraud Dextrose Agar and Rose Bengal were used for bacterial and fungal culturing. Biochemical tests were used to identify bacterial genus and the culturing was used for fungal identification. The potential of acrylonitrile biodegradation was assessed through the measurement of the concentration of acrylonitrile, acrylamide and acrylic acid.

Results: A total of 20 bacteria isolated, 7 genera including *Neisseria*, *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Shigella* and *Staphylococcus* were identified as dominant. The fungal genera including Aspergillus, Cladosporium, Trichoderma, and Penicillium were also identified as dominant. From a total of 71% acrylonitrile in biological unit. Acrylic acid concentration as breakdown product of acrylonitrile in influent and effluent were 39 and 94 mg/l, respectively. However, acrylamide concentration as a byproduct was almost constant.

***Conclusion*:** Dominant bacterium and fungi are identified as Pseudomonas and Aspergillus, respectively. Among the isolated bacteria, the genera of Alcaligenes, Pseudomonas, Bacillus and Moraxella belong to heterotrophic nitrifying bacteria that have the ability to breakdown nitrogen compounds such as acrylonitrile.

Keywords: Acrylonitrile butadiene styrene, Activated sludge, Industrial wastewater, Microbial structure

Address: Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Health Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
Tel: +98 41 33355952
Email: shakerkhatibim@tbzmed.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2016: 27(5): 383 ISSN: 1027-3727

[1] *M.S. Student, Student Research Committee, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*
[2] *Associate Professor, Environmental Engineering Department, Faculty of Health Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran (Corresponding Author)*
[3] *Professor, Environmental Health Engineering Department, Faculty of Health Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*
[4] *Lecturer, Parasitology Department, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*
[5] *M.S. in Microbiology, Faculty of Microbiology, AL Zahra University, Tehran, Iran*
[6] *M.S. in Microbiology, Faculty of Health Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:29 +0430 on Sunday July 22nd 2018