

## تأثیر غلظت اتیلن دی کلراید بر روی متان سازی بی هوازی

معصومه گلشن<sup>۱</sup>، مریم ترابی فر<sup>۲</sup>، منیژه صباغیان بیدگلی<sup>۳</sup>، محمد مهدی امین<sup>۴</sup>، محمد قاسمیان<sup>۵</sup>، لیلیا کریمی تکانلو<sup>۶</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر بازدارندگی اتیلن دی کلراید (Ethylene dichloride یا EDC) بر روی تجزیه زیستی از طریق آزمون فعالیت متان سازی ویژه (Specific methanogenic activity یا SMA) بیومس بی هوازی انجام شد.

**روش ها:** تعداد ۴۰ آزمون SMA بیومس بی هوازی به روش ناپیوسته و در ویال های شیشه ای ۱۲۰ میلی لیتری صورت گرفت. ۱۷ درصد از حجم هر ویال به بیومس، ۶۶ درصد به سوبسترا و ۱۷ درصد به تجمع بیوگاز اختصاص یافت. مدت هر batch، ۱۰ روز به طول انجامید. متان تولید شده به وسیله جایگزینی گاز با محلول ۲ نرمال هیدروکسید پتاسیم (KOH) به عنوان جاذب CO<sub>2</sub> اندازه گیری شد. آزمایش اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (COD یا Chemical oxygen demand) قبل و بعد از هر تست بر روی نمونه ها انجام شد. تغییرات دمای آزمایش ۲ ± ۳۵ °C و pH در محدوده ۷ حفظ شد. COD ورودی نیز برای هر ویال در ابتدا و انتها سنجیده می شد. اتیلن دی کلراید با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به آشکارساز اسپکترومتری جرمی (GC-MS) در ابتدا و انتهای دوره آزمایش آنالیز گردید.

**یافته ها:** در غلظت های ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰۰ و ۲۰۰۰۰ میلی گرم در لیتر اتیلن دی کلراید، کاهش تولید متان به ترتیب به میزان ۱۲/۶، ۹/۹، ۲/۹۸ و ۰/۸۶ میلی لیتر متان به ازای هر گرم VSS (Volatile suspended solids) در روز به دست آمد. کاهش راندمان حذف COD برای غلظت های فوق نیز مشاهده شد؛ به طوری که راندمان حذف COD در غلظت های فوق به ترتیب ۶۸/۹، ۷۰/۵، ۵۴/۴ و ۳۳/۸ درصد به دست آمد. اثرات بازدارندگی اتیلن دی کلراید بر میزان متان سازی بیومس بی هوازی از غلظت های بالاتر از ۷۵۰ میلی گرم بر لیتر آغاز گردید. میزان متان جمعی در غلظت های ۷۵۰، ۵۰۰۰ و ۲۰۰۰۰ میلی گرم بر لیتر اتیلن دی کلراید به ترتیب ۳۰/۷، ۹/۸۶ و ۱/۹ میلی لیتر بود. نتایج آنالیز راندمان حذف اتیلن دی کلراید با استفاده از دستگاه GC در پایان دوره در غلظت های ۵۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی گرم بر لیتر به ترتیب برابر ۹۵/۲، ۹۴/۷ و ۹۳/۸ درصد به دست آمد.

**نتیجه گیری:** افزایش غلظت اتیلن دی کلراید از حدی به بالا باعث کاهش درصد تولید متان و بازدارندگی بر فعالیت باکتری ها می شود؛ به طوری که غلظت های بالاتر از ۷۵۰ میلی گرم بر لیتر اثر بازدارندگی بر فعالیت متان سازی داشت.

**واژه های کلیدی:** فعالیت متان سازی ویژه، اتیلن دی کلراید، بیومس بی هوازی، پساب صنایع پتروشیمی

**ارجاع:** گلشن معصومه، ترابی فر مریم، صباغیان بیدگلی منیژه، مهدی امین محمد، قاسمیان محمد، کریمی تکانلو لیلیا. تأثیر غلظت اتیلن دی کلراید بر روی متان سازی بیومس بی هوازی. مجله تحقیقات نظام سلامت ۱۳۹۴؛ ۱۱ (۴): ۷۱۲-۷۰۵

پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۷/۲۶

دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۴/۶

حلالیت EDC در آب  $1^{-1} \text{ g l}^{-1}$  ضریب جذب آن  $\log K_{oc} = 1/28$  و با ثابت Henry پایین  $10^{-3} \text{ atm m}^3 \text{ mol}^{-1}$  می باشد (۲)؛ در حالی که اصلاح فیزیکی شامل استخراج از خاک و آب های زیرزمینی ناکارآمد، هزینه بر، کند و مخل محیط زیست بوده، قابلیت تجزیه زیستی EDC در شرایط هوازی (۳، ۴) و بی هوازی (۵، ۶) نشان داده شده است. تجزیه بی هوازی EDC بر اساس کلرزایی احتیاجی صورت می گیرد که در آن این ترکیب نقش پذیرنده الکترون را بازی می کند. باکتری هایی که این قابلیت را دارند، باکتری های دی هالوکوکوئید اتنوزنز و بعضی از متانوزن ها مثل متانوباکتریوم ترمواتوتروفیسوم، متانوسارسینا بارکری و متیلوسینوس

### مقدمه

دی کلرواتان ۱،۲ (1,2-DCA) یا اتیلن دی کلراید (Ethylene dichloride یا EDC) یکی از فراوان ترین محصولات صنایع کلرینه می باشد. این ترکیب همچنین، در بعضی از پروسه های صنایعی همانند سنتز فلوروکربن و ۱،۱،۱-تری کلرواتان به عنوان یک واسطه استفاده می شود. عملیات ضعیف دفن بهداشتی، نفوذ از لندفیل ها و نشت های تصادفی منجر به آلودگی آب های زیرزمینی به این آلاینده شده است. از طرفی، به دلیل حلالیت بالا در آب و ظرفیت جذب پایین، وضع برای این آلاینده وخیم تر شده است (۱).

- ۱- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
- ۲- کارشناس ارشد، گروه مهندسی بهداشت محیط، شهرداری لالی، خوزستان، ایران
- ۳- گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۴- مرکز تحقیقات محیط زیست، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۵- مرکز تحقیقات محیط زیست، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان و شرکت مهندسی فاضلاب تهران، تهران، ایران
- ۶- کارشناس ارشد، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

Email: amin@hlth.mui.ac.ir

نویسنده مسؤول: محمد مهدی امین

هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر غلظت اتیلن‌دی کلراید بر SMA بود که بر راندمان تصفیه بیولوژیکی میکروارگانیسم‌های بی‌هواری در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب پتروشیمی تأثیر می‌گذارد.

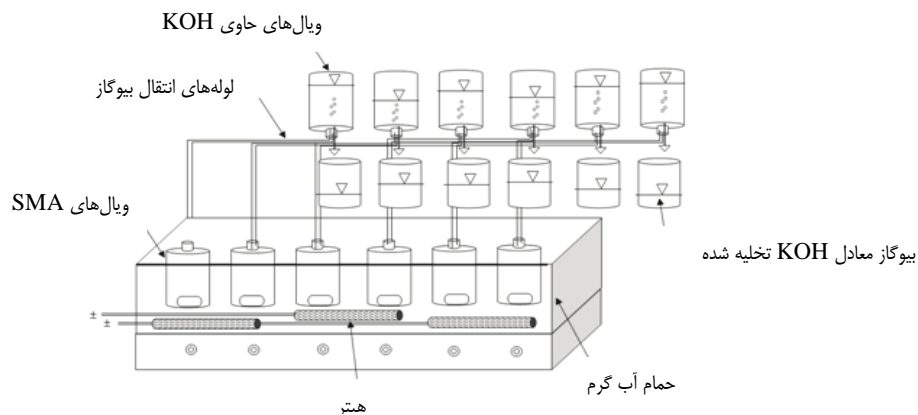
## روش‌ها

این مطالعه از نوع تجربی مداخله‌ای بود و تعداد ۴۰ آزمون SMA به روش ناپیوسته و در ویال‌های شیشه‌ای ۱۲۰ میلی‌لیتری انجام شد. هر آزمون در محدوده ۱۰ روز به طول انجامید. شکل ۱ شماتیک پیلوت مورد استفاده در این مطالعه را نشان می‌دهد. ۲۰ میلی‌لیتر از حجم هر ویال ۱۲۰ میلی‌لیتری توسط بیومس بی‌هواری، ۸۰ میلی‌لیتر سوبسترا پر گردید و ۲۰ میلی‌لیتر باقی مانده به تجمع بیوگاز اختصاص یافت. درب ویال‌ها با واشرهای لاستیکی و سپس پوشش‌های آلومینیومی آب‌بند گردید. اختلاط محتویات ویال‌ها با استفاده از دستگاه همزن مغناطیسی ۶ خانه (ساخت شرکت پارس آزما، ایران) در محدوده ۲۰-۳۰ دور در دقیقه در حمام آب گرم با حفظ دمای  $2 \pm 35$  درجه سانتی‌گراد انجام گردید (۱۵). متان تولیدی از طریق جایگزینی مایع توسط محلول ۲ نرمال KOH به عنوان جاذب  $CO_2$  و برم تیمول بلو به عنوان اندیکاتور اندازه‌گیری شد (۱۷-۱۵، ۲). جهت کنترل آزمایشات از نمونه شاهد بدون افزودن EDC استفاده گردید.

ویال‌ها با استفاده از لجن هاضم‌های بی‌هواری تصفیه‌خانه جنوب شهر اصفهان به ترتیب با مقادیر Mixed liquor suspended solids (MLSS) و Mixed liquor volatile suspended solids (MLVSS) معادل ۱۷/۲ و ۳۲/۱ گرم در لیتر بذردهی شد.

جهت فعالیت بهتر بیومس بی‌هواری و عملکرد بهتر متانوژن‌ها، سوبسترهایی با مخلوط ماکرونوترینت‌ها، میکرونوترینت‌ها به داخل راکتور اضافه شد (جدول ۱). برای سنجش راندمان حذف EDC در سه غلظت ۵۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ mg/L از دستگاه GC (Tekmar dohrmann 3800) مجهز به ستون کاپیلاری (Thermo TR-VI 30 m  $\times$  0/32 mm  $\times$  1/8 mm) استفاده شد. گاز نیتروژن به عنوان حامل (۲۰ mL/min) یا دتکتور گیرنده الکترون (ECD) به کار رفت. دمای آنزکتور و دمای دتکتور  $250^\circ C$  و  $280^\circ C$  بود. برنامه دمایی ستون در ابتدا،  $70^\circ C$  در  $10^\circ C/min$  تا  $150^\circ C$  افزایش یافت و به مدت ۱ دقیقه حفظ شد و در نهایت، در  $25^\circ C/min$  تا  $280^\circ C$  تنظیم شد.

تری‌کسپروپوم که می‌تواند EDC را به اتان، کلرزدایی کند (۶). تکنیک‌هایی که برای پایش جمعیت فعال متانوژن در شروع کار و شروع مجدد کار یک بیوراکتور برای رسیدن به درصد حذف مناسب اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (Chemical oxygen demand یا COD) به کار می‌رود، شامل شمارش میکروسکوپی، شمارش محتمل‌ترین (Most probable number یا MPN)، آنزومین تری‌فسفات (Adenosine triphosphate یا ATP)، فعالیت دهیدروژنیک، کوانتیم  $F_{420}$  و فعالیت متان‌سازی ویژه (Specific methanogenic activity یا SMA) می‌باشد. از میان این تکنیک‌ها، SMA به طور وسیعی برای پایش فعالیت متانوژنیک‌ها با وجود زمان‌بر بودن، استفاده می‌شود (۲). این روش میزان تولید متان را بر واحد بیومس میکروبی در واحد زمان بر حسب  $1 \text{ mLCH}_4 \text{ gVS}^{-1} \text{ d}^{-1}$  یا بر حسب اکسیژن مورد نیاز شیمیایی معادل متان ( $1 \text{ mgCOD gVS}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) نشان می‌دهد (۸، ۹). پایش فعالیت متانوژنیک‌ها، علاوه بر نشان دادن قابلیت لجن برای تبدیل سوبسترا آلی به متان توسط تست SMA در ارزیابی رفتار لجن تحت تأثیر پتانسیل بازدارندگی یا ترکیبات سمی و تعیین میزان آستانه آن‌ها مهم است (۱۰). با توجه به این که اکثر پروسه‌های هالوژن‌زدایی احيایی تحت شرایط متانوژنیک رخ می‌دهند و سمیت، یکی از ریسک فاکتورهای مهم تصفیه فاضلاب بی‌هواری است، بررسی اثرات غلظت بازدارندگی هیدروکربن‌های آلیفاتیک کلرینه (Chlorinated aliphatic hydrocarbon یا CAH) بر روی باکتری‌های متانوژنیک، مورد نیاز است (۱۱). پایش و کنترل بیوراکتورهای بی‌هواری به وسیله تعادل مواد مثل pH راندمان حذف COD و مقدار متان بیوگاز صورت می‌گیرد (۱۲). در واقع پایش، یک استراتژی برای رسیدن به پایداری بهتر فرایند و افزایش راندمان در هاضم‌های بی‌هواری است و به این منظور، تولید گاز معمول‌ترین شاخص جهت کنترل می‌باشد (۱۳). بازدارندگی بر روی تجزیه زیستی هیدروکربن‌ها و فعالیت متان‌سازی در تحقیقات قبلی گزارش شده است. Sanz و همکاران به بررسی بازدارندگی آلیفاتیک‌ها روی استوکلاسیک‌ها پرداختند (۱۱). Sponza در راکتور Upflow anaerobic sludge blanket (UASB) یا فاضلاب سنسنتیک برای حذف Trichloroethylene (TCE)، اثر بازدارندگی در غلظت‌های بالا بر روی فعالیت متان‌سازی را نشان داده است (۱۴). حیدری و همکاران گزارش کردند که افزایش غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها در فعالیت متان‌سازی بیومس بی‌هواری، باعث کاهش تولید متان می‌شود (۱۳).



شکل ۱. شماتیک پیلوت مورد استفاده جهت آزمایش فعالیت متان‌سازی و ویژه (Specific methanogenic activity یا SMA)

جدول ۱. مشخصات نوترینت‌ها و عناصر جزئی

نوترینت‌ها	غلظت (گرم بر لیتر)	عناصر جزئی	غلظت (گرم بر لیتر)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	۲۴/۳۰۰	CoCl <sub>2</sub>	۰/۱۴
CaCl <sub>2</sub>	۲/۲۰۰	FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	۰/۶۸
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	۷/۲۲۰	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	۰/۴۰
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	۰/۰۶۴		
NaHCO <sub>3</sub>	۷/۱۰۰		

حاصل شد (شکل ۵-الف). بیشترین میزان SMA در غلظت ۷۵۰ میلی‌گرم بر لیتر برابر با ۱۳/۹۵ میلی‌لیتر متان بر گرم VSS در روز بود. در غلظت EDC بالاتر، میزان SMA کاهش یافت؛ به طوری که کمترین میزان SMA در غلظت ۲۰ گرم بر لیتر برابر با ۰/۸۶ میلی‌لیتر متان بر گرم VSS در روز مشاهده شد (شکل ۴).

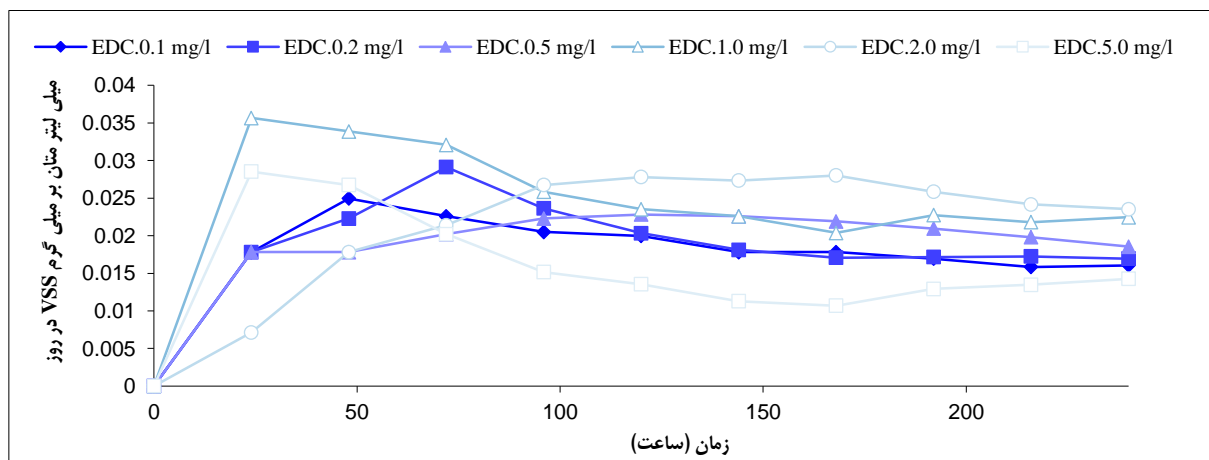
شکل ۵-ب راندمان حذف COD در غلظت‌های مختلف EDC را نشان می‌دهد. مطابق با این شکل، راندمان حذف بالاتر با تولید متان بیشتری همراه بود؛ به طوری که بیشترین راندمان (۹۳/۸ درصد) در غلظت ۷۵۰ میلی‌گرم EDC بر لیتر به دست آمد. با افزایش غلظت EDC که معادل با افزایش COD ورودی بود، درصد حذف نیز کاهش یافت.

نتایج این مطالعه نشان داد که در غلظت‌های پایین (۰/۱-۶۰ mg/L) با هر واحد افزایش در غلظت EDC، متان تجمعی افزایش می‌یابد که از نظر آماری همبستگی مثبت معنی‌داری بین آن‌ها برقرار است ( $t = ۰/۹۱۴, P < ۰/۰۰۱$ ). همچنین، همبستگی مثبت معنی‌دار آماری بین COD ورودی و متان تجمعی مشاهده شد ( $t = ۰/۹۰۲, P < ۰/۰۰۱$ ). از طرفی همبستگی معنی‌دار مثبتی نیز بین درصد حذف COD و متان تجمعی یافت شد ( $t = ۰/۸۹۸, P < ۰/۰۰۱$ ). در غلظت‌های بالا (۰/۱-۲۰ g/L)، همبستگی منفی بین غلظت EDC و متان تجمعی مشاهده شد ( $t = -۰/۸۰۷, P < ۰/۰۰۱$ ). همبستگی بین COD ورودی و متان تجمعی برابر  $t = -۰/۸۴۵, P < ۰/۰۰۱$  بود. بین درصد حذف COD و متان تجمعی همبستگی  $r = ۰/۹۶۴$  Pearson با  $P < ۰/۰۰۱$  مشاهده شد.

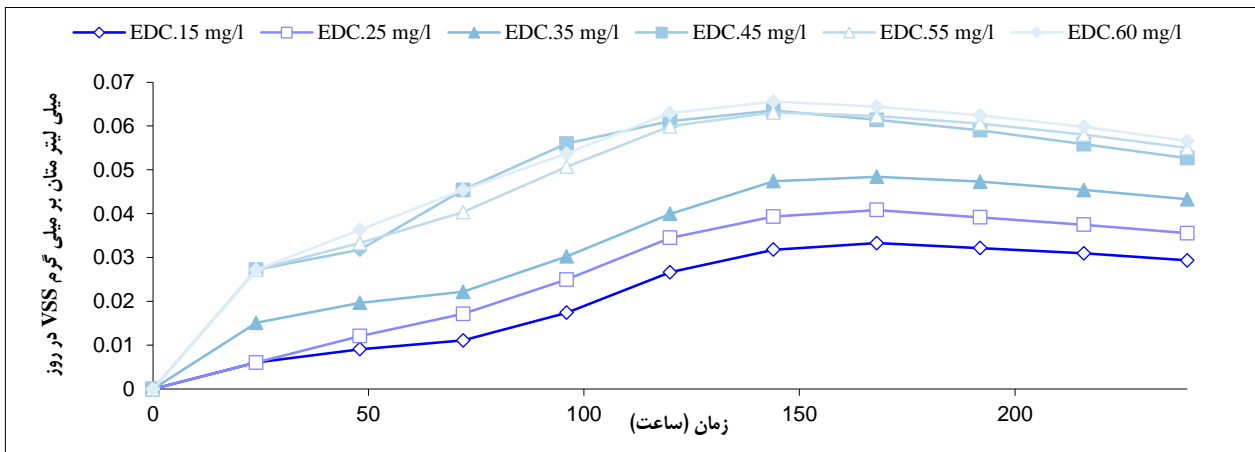
در این تحقیق از نرم‌افزار Excel و SPSS نسخه ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) برای آنالیز نمونه‌ها استفاده شد. کلیه مراحل آزمایش در آزمایشگاه پایلوت دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان صورت گرفت.

### یافته‌ها

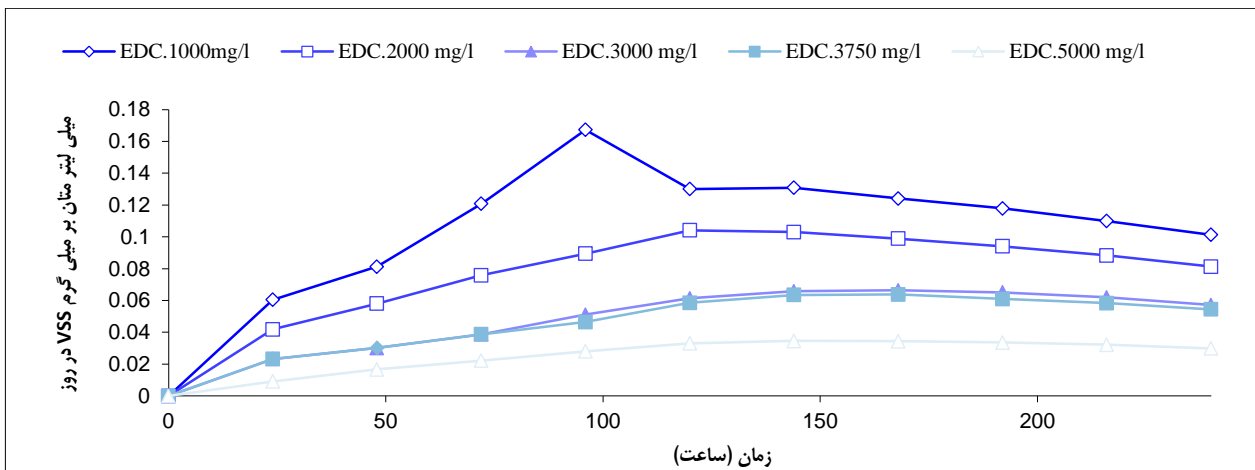
شکل ۲ میزان متان تولیدی را در برابر غلظت‌های متفاوت تزریقی اتیلن‌دی‌کلراید با گذشت زمان نشان می‌دهد. همان‌طور که در این شکل مشاهده می‌شود، افزایش غلظت اتیلن‌دی‌کلراید در گستره ۵۰-۰/۱ mg/L باعث افزایش متان تولیدی در لجن بی‌هوازی با گذشت زمان شد؛ به طوری که این میزان در غلظت ۰/۱ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر برابر ۱/۷۱ و ۵/۶۹ میلی‌لیتر متان بر گرم VSS (Volatile suspended solids) در روز و متان تجمعی در غلظت‌های فوق برابر ۴/۸ و ۱۳/۹ میلی‌لیتر به دست آمد (شکل ۵-الف). در غلظت‌های ۱۵ تا ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر، بیشترین میزان SMA تولیدی برابر با ۶/۰۲ میلی‌لیتر متان بر گرم VSS در روز بود (شکل ۳). با افزایش غلظت اتیلن‌دی‌کلراید در گستره ۱۰۰-۱۰۰۰ mg/L در لجن بی‌هوازی مورد آزمایش، میزان SMA در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، ۱۰/۲ میلی‌لیتر متان بر گرم VSS در روز و در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، ۹/۹ میلی‌لیتر متان بر گرم VSS در روز، به دست آمد (شکل ۵-الف). اگرچه، میلی‌لیتر متان تجمعی پس از ده روز برای غلظت ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کاهش یافت، ولی در غلظت‌های فوق به ترتیب ۱۳/۸۹ و ۹/۹ میلی‌لیتر متان



شکل ۲. تأثیر اتیلن‌دی‌کلراید بر روی میزان تجمعی متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوازی در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۵، ۱، ۲، ۵ میلی‌گرم بر لیتر EDC: Ethylene dichloride; VSS: Volatile suspended solids



شکل ۳. تأثیر اتیلن دی کلراید بر روی میزان تجمع متان سازی ویژه بیومس بی هوازی در غلظت های ۱۵، ۲۵، ۳۵، ۴۵، ۵۵ و ۶۰ میلی گرم بر لیتر EDC: Ethylene dichloride; VSS: Volatile suspended solids



شکل ۴. تأثیر اتیلن دی کلراید بر روی میزان تجمع متان سازی ویژه بیومس بی هوازی در غلظت های بالا شامل غلظت های ۱، ۳، ۲، ۳/۷۵ و ۵ گرم بر لیتر EDC: Ethylene dichloride; VSS: Volatile suspended solids

در نهایت، به منظور تعیین عوامل تأثیرگذار بر میانگین غلظت متان تجمع می با استفاده از مدل رگرسیون خطی چندگانه به روش Backward، نشان داده شد که به ازای هر واحد افزایش در حذف COD، میانگین غلظت متان تجمع می به اندازه ۰/۲۱ واحد افزایش یافته است ( $P < ۰/۰۰۱$ ) و همچنین، به ازای هر واحد افزایش در غلظت EDC، میانگین متان تجمع می به اندازه ۰/۰۰۱ افزایش می یابد که این افزایش از نظر آماری معنی دار است ( $P = ۰/۰۴$ ). در این مطالعه، در مدل نهایی رگرسیون ۹۰ درصد تغییرات متغیر میانگین غلظت متان تجمع می توسط متغیرهای غلظت EDC و درصد حذف COD تدبیر می شود که این مقدار نشان دهنده کارایی بالای مدل است و ۱۰ درصد به متغیرهای دیگر مربوط می گردد (جدول ۲).

### بحث

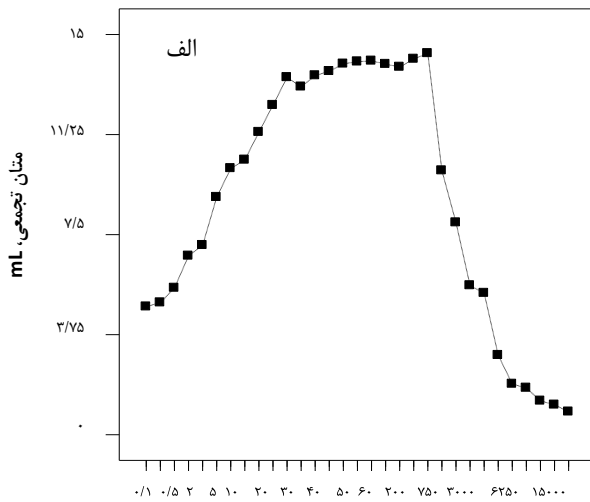
نرخ کلرزایی EDC با تولید متان ارتباط نزدیکی دارد. در واقع متان محصول پایانی پروسه های تجزیه محسوب می شود (۱۸). مطابق با نتایج حاصل، بیشترین میزان SMA تولیدی در غلظت ۷۵۰ میلی گرم بر لیتر برابر

مشاهده می‌شود (۱۹). در مطالعه دیگری، افزایش در VFA به خصوص پروپیونیک اسید نشان دهنده نامتعادل بودن بین تولید سریع اسیدها به وسیله هیدرولیز/اسیدوژنیز و تجزیه به نسبت کند به وسیله استوژنیز/متانوژنیز بود. VFA توسط استوژنیک‌ها و استوکلاستیک‌ها سریع تجزیه نمی‌شوند و به این دلیل، پروسه کلی هضم بی‌هوازی می‌شود (۲۰). همچنین، مشاهده شد که افزایش غلظت پروپیونیک اسید تا ۶ گرم بر لیتر اثر بازدارندگی در مرحله متانوژنیک ندارد. در نهایت، برای این که یک ماده شیمیایی پروسه متابولیک را مهار کند، لازم است تا از غشای سیتوپلاسمیک عبور کند. این غشا از پخش ترکیبات یونیزه به داخل سلول میکروبی جلوگیری می‌کند. بنابراین، تنها پروپیونیک اسید غیر یونیزه قادر است تا وارد سلول شده و متابولیسم باکتریایی را مختل کند و فرم یونیزه خارج از سلول باقی می‌ماند. تعادل بین فرم یونیزه و غیر یونیزه به pH بستگی دارد (۲۰).

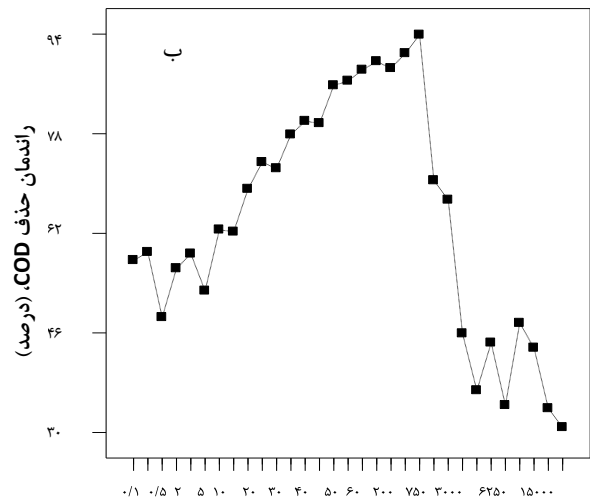
استات پیشرو ۷۵ درصد از متان تولید شده در هاضم‌های بی‌هوازی می‌باشد و تجزیه آن به عنوان مرحله محدود کننده در تجزیه سوبستراهای آلی پیچیده شناخته شده است. پروپیونات و بوتیرات اسیدهای چربی است که به استات و هیدروژن تبدیل می‌شود (۲۱). Siggins و همکاران، علت تجمع استات در راکتور را به دلیل حساسیت بالای استوکلاستیک‌ها به TCE و دی‌کلرواتیلن (DCE)، بیان کردند (۲۰).

غلظت‌های پروپیونات از ۱ تا ۱۰ gCOD/kg، افزایش در SMA از ۱/۸ تا ۱۱/۳ mgCOD/gVS d مشاهده شد. اگرچه، در مطالعه آن‌ها در غلظت COD بالاتر میزان میلی‌لیتر متان تولیدی افزایش یافت، اما آن‌ها به بررسی غلظت‌های بالاتر نپرداختند.

تبدیل زیستی اسیدهای چرب مثل پروپیونات به استات و هیدروژن به طور ترمودینامیکی خود به خود در شرایط استاندارد رخ نمی‌دهد. واکنش‌های مصرف هیدروژن مثل تولید متان برای کاهش میزان هیدروژن نیاز است. در واقع، این باعث می‌شود که تبدیل زیستی پروپیونات رو به جلو رانده شود. در این رابطه، تجزیه پروپیونات زمانی که غلظت هیدروژن بالاتر از  $10^{-4}$  اتمسفر برسد، متوقف می‌شود. غلظت‌های بالاتر منجر به افزایش غلظت اسید پروپیونیک و اسیدهای کربوکسیلیک در هاضم می‌شود (۲۱، ۱۹). بنابراین، در این حالت هیدروژن تجمع یافته و اسید پروپیونیک سریع‌تر از بقیه اسیدهای چرب فرار (VFA یا Volatile fatty acids) تشکیل شده و دیرتر تجزیه می‌شود (۲۰). افزایش غلظت اسید باعث کاهش pH و بازدارندگی و توقف تولید متان می‌شود و این می‌تواند یکی از دلایل احتمالی بازدارندگی در فعالیت باکتری‌ها با افزایش غلظت آلاینده باشد (۲۱). البته، در مطالعه حاضر اندازه‌گیری pH و اسیدهای چرب صورت نگرفته است. با کاهش تولید گاز از ۴۸۸ به ۱۴۳ لیتر با افزایش جامدات خشک در هاضم بی‌هوازی مواد زاید جامد، افزایش در VFA و افت pH



غلظت اتیلن‌دی‌کلراید، mg/L



غلظت اتیلن‌دی‌کلراید، mg/L

شکل ۵. تأثیر غلظت‌های مختلف اتیلن‌دی‌کلراید در پاسخ به الف) میلی‌لیتر تولید متان جمع‌ی، ب) راندمان حذف COD

جدول ۲. بررسی تأثیر متغیرهای غلظت EDC و راندمان حذف COD بر روی غلظت متان جمع‌ی به روش رگرسیون Backward

متغیرها	$\beta$	S.E	P	$R^2$
پایه	-۴/۰۷۱	۱/۴۳۶	۰/۰۰۸	۰/۹
غلظت EDC، میلی‌گرم بر لیتر	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	۰/۰۴۰	
درصد حذف COD	۰/۲۰۷	۰/۰۲۰	<۰/۰۰۱	

(شکل ۵-ب).

افزایش در COD ورودی در غلظت‌های بالاتر اتیلن‌دی کلراید می‌تواند دلیل دیگری بر کاهش تولید متان (شکل ۵-الف) و همچنین، کاهش راندمان حذف COD (شکل ۵-ب) باشد. نتایج آنالیز راندمان حذف اتیلن‌دی کلراید با استفاده از دستگاه GC در پایان دوره در سه غلظت ۵۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب برابر ۹۵/۲، ۹۴/۷ و ۹۳/۸ درصد به دست آمد و نشان می‌دهد که سوبستره اضافه شده به تولید متان منجر شده است (۹).

### نتیجه‌گیری

اثر غلظت سوبستره بر روی SMA در این مطالعه بررسی شد. آزمایش‌های SMA در غلظت‌های مختلف EDC (از ۰/۱ تا ۲۰۰۰۰ mg/L) انجام شد. نتایج نشان داد که SMA به غلظت EDC وابسته است. بالاترین SMA اندازه‌گیری شده ۱۳/۹۵ mLCH<sub>4</sub>/gVSS d برای غلظت ۷۵۰ mg/L به دست آمد. اتیلن‌دی کلراید در غلظت‌های بالای ۷۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بازدارنده بر فعالیت باکتری‌ها بود. همبستگی مثبت معنی‌داری بین افزایش غلظت EDC و تولید متان تجمعی در غلظت‌های پایین مشاهده شد، اما در غلظت‌های بالاتر این همبستگی از نظر آماری منفی بود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح پژوهشی مصوب با عنوان تجزیه بیولوژیکی بی‌هوایی اتیلن‌دی کلراید به روش ناپیوسته توسط آزمایش فعالیت متان‌سازی ویژه (SMA) در مقطع کارشناسی در سال ۸۶ و شماره ۲۸۶۱۱۶ است که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان اجرا شده است.

در مطالعه‌ای دیگر، افزایش غلظت TCE از ۱۰ تا ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر، باعث کاهش ۲۹ درصدی راندمان حذف COD و ۵۴ درصدی تولید متان بیوگاز در غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر شد. متانوژن‌های استوکلاستیک تا حدی در حضور TCE و مشتقات تجزیه آن، مهار می‌شود؛ در حالی که در رقابت با ارگانسیم‌های کلرزدا می‌تواند دسترسی هیدروژن برای متانوژن‌های هیدروژنیک محدود شود (۷). در مطالعه حاضر، کاهش متان تولیدی در غلظت‌های بسیار بالای اتیلن‌دی کلراید گفته بالا را تصدیق می‌کند (شکل ۵-الف، جدول ۲). این امر منجر به کاهش ۹۰/۱۴، ۹۵/۸ و ۹۸ درصدی تولید متان به ترتیب در غلظت‌های ۵، ۱۲/۵ و ۲۰ گرم بر لیتر اتیلن‌دی کلراید شد. در تحقیق حیدری و همکاران نیز افزایش در غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به کاهش در فعالیت متان‌سازی بیومس بی‌هوایی شد (۱۳). در تحقیق آن‌ها در غلظت‌های ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آنتی‌بیوتیک اوفلوکساسین، کاهش تولید متان به ترتیب ۴۵، ۷۶ و ۸۸ درصد و کاهش ۶۸، ۸۱ و ۸۸ درصدی در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سیپروفلوکساسین مشاهده شد. همچنین، با افزایش غلظت آلیفاتیک‌ها، بازدارندگی در فعالیت استوکلاستیک‌ها مشاهده شد که این بازدارندگی روند افزایشی داشت (۱۳). مطالعه‌ای که Sponza در راکتور UASB با فاضلاب سنتتیک برای حذف TCE انجام داد، نیز قابل مقایسه با یافته‌های این مطالعه است (۱۴). در تحقیق آن‌ها TCE در غلظت‌های ۱۰ و ۵ mg/L بازدارنده بود. در تحقیق حاضر از غلظت‌های بیشتر از ۷۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بازدارندگی آغاز شد؛ به طوری که کاهش در متان تولیدی (شکل ۵-ب) و کاهش در درصد حذف COD مشاهده می‌شود (جدول ۲). در مطالعه Sponza راندمان حذف TCE در غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر، ۸۸ درصد با میزان SMA تولیدی ۱/۳۲ گرم COD بر گرم TSS در روز به دست آمد (۱۴). در مطالعه حاضر راندمان حذف COD در غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر ۷۲/۴ درصد به دست آمد

### References

- Dinglasan-Panlilio MJ, Dworatzek S, Mabury S, Edwards E. Microbial oxidation of 1,2-dichloroethane under anoxic conditions with nitrate as electron acceptor in mixed and pure cultures. *FEMS Microbiol Ecol* 2006; 56(3): 355-64.
- de Wildeman S, Nollet H, van Langenhove H, Verstraete W. Reductive biodegradation of 1,2-dichloroethane by methanogenic granular sludge in lab-scale UASB reactors. *Advances in Environmental Research* 2001; 6(1): 17-27.
- Olaniran AO, Naidoo S, Masango MG, Pillay B. Aerobic biodegradation of 1,2-dichloroethane and 1,3-dichloropropene by bacteria isolated from a pulp mill wastewater effluent in South Africa. *Biotechnol Bioprocess Eng* 2007; 12(3): 276-81.
- Shokrollahzadeh S, Azizmohseni F, Golmohammad F, Shokouhi H, Khademhaghighat F. Biodegradation potential and bacterial diversity of a petrochemical wastewater treatment plant in Iran. *Bioresour Technol* 2008; 99(14): 6127-33.
- Siggins A, Enright AM, O'Flaherty V. Methanogenic community development in anaerobic granular bioreactors treating trichloroethylene (TCE)-contaminated wastewater at 37 degrees C and 15 degrees C. *Water Res* 2011; 45(8): 2452-62.
- Pham H, Boon N, Marzorati M, Verstraete W. Enhanced removal of 1,2-dichloroethane by anodophilic microbial consortia. *Water Res* 2009; 43(11): 2936-46.
- Dong F, Zhao QB, Zhao JB, Sheng GP, Tang Y, Tong ZH, et al. Monitoring the restart-up of an Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactor for the treatment of a soybean processing wastewater. *Bioresour Technol* 2010; 101(6): 1722-6.
- le Hyaric R, Chardin C, Benbelkacem H, Bollon J, Bayard R, Escudie R, et al. Influence of substrate concentration and moisture content on the specific methanogenic activity of dry mesophilic municipal solid waste digestate spiked with propionate. *Bioresour Technol* 2011; 102(2): 822-7.
- Ince O, Anderson GK, Kasapgil B. Control of organic loading rate using the specific methanogenic activity test during start-up of an anaerobic digestion system. *Water Research* 1995; 29(1): 349-55.
- Souto TF, Aquino SF, Silva SQ, Chernicharo CA. Influence of incubation conditions on the specific methanogenic activity test. *Biodegradation* 2010; 21(3): 411-24.
- Sanz JL, Rodriguez N, Amils R. Effect of chlorinated aliphatic hydrocarbons on the acetoclastic methanogenic activity of

- granular sludge. *Appl Microbiol Biotechnol* 1997; 47(3): 324-8.
12. McHugh S, Carton M, Collins G, O'Flaherty V. Reactor performance and microbial community dynamics during anaerobic biological treatment of wastewaters at 16-37 degrees C. *FEMS Microbiol Ecol* 2004; 48(3): 369-78.
  13. Heidari M, Saffari Khouzani H, Amin MM, Ghasemian M, Taherian E, Attari L, et al. Inhibition effect of antibiotics ciprofloxacin and ofloxacin and hormone  $\beta$ -stradiol 17 valerat on the methanogenic activity of anaerobic biomass. *Iran J Health Environ* 2011; 4(2): 189-200. [In Persian].
  14. Sponza DT. Anaerobic granule formation and tetrachloroethylene (TCE) removal in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. *Enzyme and Microbial Technology* 2001; 29(6-7): 417-27.
  15. van Haandel A, Lettinga G. *Anaerobic sewage treatment: a practical guide for regions with a hot climate*. Hoboken, NJ: John Wiley and Sons; 1994.
  16. Angelidaki I, Alves M, Bolzonella D, Borzacconi L, Campos L, Guwy A, et al. *Anaerobic Biodegradation, Activity and Inhibition (ABAI) Task Group Meeting 9<sup>th</sup> to 10<sup>th</sup> October 2006, in Prague*. Kongens Lyngby, Denmark: Institute of Environment and Resources, Technical University of Denmark; 2007.
  17. le Hyaric R, Canler JP, Barillon B, Naquin P, Gourdon R. Pilot-scale anaerobic digestion of screenings from wastewater treatment plants. *Bioresour Technol* 2010; 101(23): 9006-11.
  18. Gourdon R, Vermande P. Effects of propionic acid concentration on anaerobic digestion of pig manure. *Biomass* 1987; 13(1): 1-12.
  19. Aguilar A, Casas C, Lema JM. Degradation of volatile fatty acids by differently enriched methanogenic cultures: Kinetics and inhibition. *Water Res* 1995; 29(2): 505-9.
  20. Siggins A, Enright AM, O'Flaherty V. Low-temperature (7 degrees C) anaerobic treatment of a trichloroethylene-contaminated wastewater: microbial community development. *Water Res* 2011; 45(13): 4035-46.
  21. Tale VP, Maki JS, Struble CA, Zitomer DH. Methanogen community structure-activity relationship and bioaugmentation of overloaded anaerobic digesters. *Water Res* 2011; 45(16): 5249-56.



## Influence of Ethylene Dichloride Concentration on the Methanogenic Activity of Anaerobic Biomass

Masoumeh Golshan<sup>1</sup>, Maryam Torabifar<sup>2</sup>, Manizhe Sabaghian-Bidgoli<sup>3</sup>,  
 Mohammad Mehdi Amin<sup>4</sup>, Mohammad Ghasemian<sup>5</sup>, Leila Karimi-Takanlu<sup>6</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** In this study, the inhibitory effect of ethylene dichloride (EDC) on biodegradation was investigated using the specific methanogenic activity (SMA) test of anaerobic biomass.

**Methods:** 40 SMA tests were performed using 120-ml vials in batch mode. Substrate, biomass, and biogas occupied 66%, 17%, and 17% (v/v) of the volume of each vial, respectively. The duration of each batch test was 10 days. Produced methane was measured through gas replacement with 2N KOH solution as CO<sub>2</sub> absorbent. The chemical oxygen demand (COD) test was performed on samples before and after each test. The variation in temperature and pH were retained at 35 ± 2°C and 7, respectively. The input COD was measured for each vial at the beginning and end of the experiment. EDC was analyzed through gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) at the beginning and end of the experiments.

**Findings:** With the EDC concentrations of 500, 1000, 5000, and 20000 mg/l, methane productions of 12.6, 9.9, 2.98, and 0.86 ml/day per gram VSS were observed, respectively. A decline in the efficiency of COD removal was also observed in the mentioned EDC concentrations. The efficiency of COD removal at the mentioned concentrations was 68.9, 70.5, 54.4, and 33.8%, respectively. The inhibitory effects of EDC on methanogenic activity of anaerobic biomass started at its concentrations higher than 750 mg/l. The amounts of cumulative methane at EDC concentrations of 750, 5000, and 20000 mg/l were 30.7, 9.86, and 1.9 ml/day, respectively. EDC removal efficiency at initial concentrations of 500, 2000, and 3000 mg/l was 95.2%, 94.7%, and 93.8%, respectively.

**Conclusion:** The results of this study indicated that EDC concentrations of higher than 750 mg/l caused a decrease in bacterial activity and reduction in methane production.

**Key words:** Specific methanogenic activity (SMA), Ethylene dichloride (EDC), Anaerobic biomass, Petrochemical industry wastewater

**Citation:** Golshan M, Torabifar M, Sabaghian-Bidgoli M, Amin MM, Ghasemian M, Karimi-Takanlu L. **Influence of Ethylene Dichloride Concentration on the Methanogenic Activity of Anaerobic Biomass.** J Health Syst Res 2015; 11(4): 705-12

Received date: 26/07/2015

Accept date: 18/10/2015

1- Student Research Committee, School of Health, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

2- Department of Environmental Health Engineering, Lali Municipality, Khuzestan, Iran

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

4- Environment Research Center, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

5- Environment Research Center, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan AND Tehran Wastewater Engineering Company, Tehran, Iran

6- Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**Corresponding Author:** Mohammad Mehdi Amin, Email: amin@hlth.mui.ac.ir