

ارزیابی تخریب زیستی بخار هگزان در حضور روغن سیلیکون و مواد سطح فعال غیریونی و آنیونی

مهسا قاسمی، سید مرتضی ضمیر^{+*}

گروه مهندسی شیمی - بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

اطلاعات مقاله

چکیده



واژه‌های کلیدی:

ترکیب آلی فرار،
تخریب زیستی هگزان،
روغن سیلیکون، ساپونین،
سدیم دودسیل سولفات،
روش سطح پاسخ

Keywords:

Volatile organic compounds,
Hexane biodegradation,
Silicone oil, Saponin,
Sodium dodecyl sulfate,
Response surface
methodology

دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۹

پذیرش: ۱۴۰۴/۱۲/۱۱

نوع مقاله: علمی - پژوهشی

علاوه بر روش‌های فیزیکی و شیمیایی برای حذف مواد آلی فرار، روش‌های زیستی به دلیل هزینه پایین‌تر، سازگاری بیشتر با محیط زیست و بازده قابل قبول، امروزه به‌عنوان جایگزینی مناسب برای تصفیه هوای آلوده صنعتی مطرح هستند تا از اثر نامطلوب بر محیط زیست و سلامتی پیشگیری نمایند. از جمله روش‌های غلبه بر محدودیت انتقال جرم این مواد آب‌گریز و بهبود تخریب زیستی آن‌ها، استفاده از فازهای غیرآبی و مواد سطح فعال است. در پژوهش حاضر، تخریب زیستی هگزان به‌عنوان ترکیب آلی فرار در غلظت $55-7 \text{ g/m}^3$ در حضور ساپونین به‌عنوان ماده سطح فعال زیستی غیریونی، سدیم دودسیل سولفات به‌عنوان ماده سطح فعال شیمیایی آنیونی و روغن سیلیکون به‌عنوان رایج‌ترین فاز غیرآبی به‌صورت جداگانه بررسی شد. غلظت‌های بهینه هگزان، ساپونین، سدیم دودسیل سولفات و روغن سیلیکون برای دستیابی به بیشترین نرخ تخریب زیستی ویژه هگزان با استفاده از روش سطح پاسخ بدست آمدند. ساپونین مخصوصاً در غلظت‌های بیشتر از 1 CMC بر تخریب زیستی اثر منفی داشته و غلظت بهینه آن 0.06 CMC تعیین شد. سدیم دودسیل سولفات به دلیل سمیت شدید برای ریزاندامگان در تمام غلظت‌ها منجر به توقف فرایند تخریب زیستی شد. بیشترین نرخ تخریب زیستی ویژه هگزان، در حضور مقادیر بهینه 54 g/m^3 هگزان و $2\% \text{ v/v}$ روغن سیلیکون به‌دست آمد. لازم به ذکر است، میانگین بازده حذف هگزان در حضور ساپونین ($RE_{\text{avg}} = 83\%$) بیشتر از این مقدار در حضور روغن سیلیکون ($RE_{\text{avg}} = 63\%$) بود. اثر منفی روغن سیلیکون بر تخریب زیستی هگزان می‌تواند ناشی از بروز بازدارندگی منبع کربن به دلیل غلظت‌های بالای هگزان در حضور روغن سیلیکون در فاز مایع باشد. بنابراین در غلظت‌های بالای هگزان، حضور برخی مواد سطح فعال و روغن سیلیکون می‌تواند موجب کاهش نرخ تخریب زیستی هگزان از طریق تغییر در زیست‌دسترس پذیری آلاینده شود. در نتیجه، انتخاب دقیق نوع افزودنی و محدوده غلظتی بهینه آن باتوجه به توانایی جمعیت میکروبی در تخریب زیستی در دستیابی به بیشترین بازده اهمیت ویژه‌ای دارد.

* عهده‌دار مکاتبات

+E-mail: zamir@modares.ac.ir

ارجاع: مهسا قاسمی، سید مرتضی ضمیر، ارزیابی تخریب زیستی بخار هگزان در حضور روغن سیلیکون و مواد سطح فعال غیریونی و آنیونی، نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران، ۴۵(۱): ۴۵ تا ۱۳۴ (۱۴۰۵).

مقدمه

رشد روز افزون فعالیت‌های صنعتی و رعایت نکردن الزام‌های زیست محیطی در چند دهه اخیر، موجب انتشار بخش عظیمی از آلاینده‌های هیدروکربنی در محیط‌زیست شده است [۱]. ترکیبات آلی فرار^۱ (VOCs)، تقریباً ۷٪ از آلاینده‌های هوا را تشکیل می‌دهند و اثر مهمی روی کیفیت هوا، سلامتی انسان و محیط زیست دارند [۲]. این ترکیبات در دمای ۲۵°C دارای فشار بخار بیشتر از ۰/۵ کیلوپاسکال هستند و شامل آروماتیک‌ها، هیدروکربن‌های مختلف کلردار، پرفلوروکربن‌ها، الکل‌ها، استرها، کتون‌ها، آلیفاتیک‌ها و... هستند که از لحاظ ضریب هنری به سه دسته آب‌دوست، آب‌گریز و نسبتاً آب‌گریز تقسیم می‌شوند [۳].

بنزن، استون، کلروفرم، استایرن، هگزان، تولوئن و مواد مشابه نمونه‌هایی از ترکیبات آلی فرار هستند. هگزان و تولوئن جزو ۱۸۹ آلاینده خطرناک دنیا هستند که در گازهای خروجی اکثر صنایع یافت می‌شوند [۴]. هگزان یک ماده آلی فرار بسیار آب‌گریز و سمی با فشار بخار ۱۷/۶ کیلوپاسکال در دمای ۲۵°C است که به صورت گسترده در صنایع پلیمری، نساجی و دارویی استفاده می‌شود و از مواد تشکیل دهنده بسیاری از محصولات مصرفی مانند چسب‌های اسپری، رنگ‌ها، پاک‌کننده‌های شیمیایی و... است [۵]. تصفیه هوای آلوده اغلب به دلیل دبی بالای جریان آلوده که دارای غلظت‌های بسیار کم آلاینده است با چالش‌های بسیاری روبه‌رو است [۶]. روش‌های زیستی مانند تخریب زیستی، جذب زیستی و تجمع زیستی نسبت به روش‌های دیگر برای تصفیه جریان هوای آلوده با دبی بالا و غلظت پایین مقرون به صرفه‌تر و همچنین دوست‌دار محیط زیست هستند. در غلظت‌های بالا، بازدارندگی و سمیت ناشی از مواد آلی فرار بر کارایی روش‌های زیستی اثر منفی دارد. در عین حال، تخریب‌زیستی ترکیبات آب‌گریز به علت خاصیت آب‌گریزی و انحلال کم آن‌ها در آب که منجر به کاهش زیست‌دسترس پذیری و نرخ تخریب زیستی می‌شود دارای عملکرد ضعیفی است [۲].

روش‌های مختلفی برای بهبود حذف آلاینده‌های آب‌گریز استفاده می‌شود که از آن‌ها می‌توان به افزودن مواد سطح‌فعال، استفاده از ترکیبات آب‌دوست و بیوراکتورهای دو فاز-توزیعی^۲ (استفاده از فاز غیرآبی) اشاره کرد. مواد سطح‌فعال قادر به افزایش حلالیت و دسترس‌پذیری ترکیبات آب‌گریز یا ترکیبات آلی نامحلول در محلول‌های آبی هستند که منجر به افزایش نرخ تخریب‌زیستی این ترکیبات می‌شود [۲]. استفاده از ساپونین با غلظت ۵۰ mg/L زمان ماند ۳۰ S و بارگذاری ۷۲ g/m³.h در یک فیلترزیستی چکنده،

بیشینه بازده حذف نرمال هگزان را به ۸۸٪ رسانده است. همچنین محققان متوجه شدند که ساپونین می‌تواند نرخ تجمع زیست توده را در بستر کاهش دهد [۲]. با این حال، همه مواد سطح‌فعال برای افزایش تخریب زیستی ترکیبات آلی آب‌گریز در فیلتر زیستی مؤثر نیستند. به عنوان مثال بازده حذف در فرایند حذف تری‌کلرواتیلن^۳ و تتراکلرواتیلن^۴ با افزودن سطح‌فعال غیریونی آلفونیک آر ۶۰-۸۱۰ به یک فیلتر زیستی با کربن فعال و زمان ماند ۲-۱/۵ دقیقه بهبود چندانی نیافت [۲]. تفاوت رفتار مواد سطح‌فعال یونی و غیریونی ناشی از نوع برهم‌کنش آن‌ها با سطح سلول و تغییر در نفوذپذیری غشا است. مواد سطح‌فعال غیریونی معمولاً اثرات تسهیل‌کننده بر انتقال جرم دارند، درحالی‌که مواد سطح‌فعال یونی ممکن است با بار سطحی سلول‌ها تداخل ایجاد کرده و در غلظت‌های بالا موجب مهارنسبی فعالیت آنزیمی شوند [۴]. نتایج مقایسه تخریب زیستی هگزان، در فیلتر زیستی چکنده^۶ با حالتی که مخلوطی از هگزان، دی‌کلرومتان^۷ (DCM) و N,N-دی‌متیل‌استامید^۸ (DMAC) حضور دارند، نشان‌دهنده اثرات هم‌افزایی ترکیبات آب‌دوست و آب‌گریز است. افزایش غلظت DMAC باعث افزایش بازده حذف هگزان شد که بیانگر اثر تقویتی DMAC آب‌دوست بر تخریب زیستی هگزان آب‌گریز است. در مقابل، غلظت‌های بالای DCM کاهش بازده حذف هگزان را به همراه داشت که ناشی از رقابت در مصرف سوپسترا گزارش شده است [۷].

در بیوراکتورهای دو فاز-توزیعی، استفاده از فاز غیرآبی به میزان قابل توجهی بازده حذف ترکیبات آب‌گریز را به وسیله افزایش نیروی محرکه انتقال جرم از فاز گاز به زیست‌لایه افزایش می‌دهد [۲]. روغن سیلیکون به دلیل داشتن کشش سطحی پایین، پایداری شیمیایی و حرارتی بالا، غیرسمی بودن برای ریزاندامگان و قابلیت حفظ درازمدت مواد فرار در فاز آلی، به عنوان محبوب‌ترین و مناسب‌ترین فاز غیرآبی مورد استفاده است. در کنار ویژگی‌های مثبت این ماده، ویسکوزیته زیاد آن، استفاده در مقیاس صنعتی را محدود می‌کند. روغن سیلیکون در غلظت‌های بالاتر از ۱۰٪ v/v به علت افزایش ویسکوزیته فاز مایع، کارایی سیستم تصفیه و تخریب زیستی آلاینده را کاهش می‌دهد [۸]. درصد استفاده از روغن سیلیکون در زیست واکنشگاه‌های دوفازی-توزیعی به طور معمول ۲۰-۵٪ v/v است [۹]. نتایج مطالعه‌ی مونیز و همکاران^۹ حاکی از افزایش کارایی حذف هگزان در بیوراکتور دوفازی - توزیعی در حضور روغن سیلیکون به میزان ۷۵٪ نسبت به حالت بدون روغن سیلیکون است [۶]. لبررو و همکاران^{۱۰} گزارش کرده‌اند که افزودن ۱۰٪ v/v از

(۱) Volatile Organic Compounds (VOCs)

(۳) Trichloroethylene (TCE)

(۵) Aliphonic R810-60

(۷) Dichloromethane (DCM)

(۹) Munoz R. et al.

(۲) Two-Phase Partitioning Bioreactor

(۴) Tetrachloroethylene (PCE)

(۶) Biotrickling Filter (BTF)

(۸) N,N-Dimethylacetamide (DMAC)

(۱۰) Lebrero R. et al.

جمعیت ریزاندامگان نهایی، با استفاده از روش رقت سازی متوالی^۳ از منبع میکروبی موجود نمونه رقیق آماده شده و از رقت‌های مختلف کشت جامد تهیه شد. سپس کشت‌ها به منظور خالص سازی جدایه‌ها تکرار شده و بررسی‌های میکروسکوپی و ماکروسکوپی انجام شد. آزمایش‌های خالص سازی و تشخیص مولکولی ۱۶ S rDNA توسط مرکز ذخایر ژنتیکی و مولکولی ایران انجام شد [۱۱].

روش‌های اندازه گیری

غلظت هگزان و کربن‌دی‌اکسید به روش فضای خالی^۴ در دستگاه کروماتوگرافی گازی (طیف گستر فراز، مدل TG2552-ایران) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری غلظت هگزان از آشکارساز یون‌سازی شعله (FID)، ستون موبینه ($0.32 \mu\text{m}$ و ۲۵ m و TRB-5) و هیدروژن به عنوان گاز حامل با دبی ۲ mL/min و نسبت جداسازی ۱ به ۲ استفاده شد. دماهای ستون، آشکارساز و محل تزریق به ترتیب 120°C ، 250°C و 250°C بودند. غلظت کربن‌دی‌اکسید با استفاده از آشکارساز هدایت گرمایی (TCD)، ستون پر شده PorapakQ و گاز هیدروژن به عنوان گاز حامل اندازه‌گیری شد و دماهای ستون، آشکارساز و محل تزریق به ترتیب 40°C ، 100°C و 100°C بودند. در زمان‌های مشخص، از یک سرنگ گازی با حجم ۱ mL (همیلتون، سوییس) برای نمونه‌گیری از هوای داخل ویال‌ها جهت آنالیز هگزان یا کربن‌دی‌اکسید استفاده شد. حجم تزریق به کروماتوگرافی گازی ۰/۵ mL بود. برای تعیین غلظت زیست توده، از محیط مایع به کمک یک سرنگ انسولینی استریل، ۱ mL نمونه‌گیری در زمان‌های مشخص انجام و بلافاصله، مقدار چگالی نوری آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۰۰ nm خوانده شد. ارتباط چگالی نوری و وزن خشک زیست توده از قبل در یک فرایند کالیبراسیون و با ضریب برازش ۰/۹۹ به دست آمد.

تعیین غلظت بحرانی مایسلی (CMC) سدیم دودسیل سولفات و ساپونین

حضور نمک‌های معدنی در محیط کشت روی قدرت یونی محلول اثر گذار است، این موضوع اثر قابل توجهی روی CMC مواد سطح‌فعال یونی دارد [۱۳]. غلظت بحرانی مایسلی (CMC) محدوده باریکی از غلظت است که در آن یک تغییر ناگهانی در خواص فیزیکی مانند هدایت الکتریکی، کشش سطحی، فشار اسمزی، دانسیته و پخش نور^۵ در محلول‌های حاوی ماده سطح‌فعال رخ می‌دهد [۱۴]. باتوجه به این‌که ساپونین غیریونی است، CMC آن همان مقدار گزارش شده توسط شرکت سازنده (55 mg/L) در نظر گرفته شد. اما به دلیل این‌که SDS یک ماده سطح‌فعال آنیونی است، CMC آن

روغن سیلیکون به عنوان فازغیرآبی به فیلتر زیستی به منظور حذف هگزان از هوا، عملکرد حذف آن را تا ۷۲٪ در مقایسه با فیلتر زیستی بدون فازغیرآبی بهبود می‌بخشد [۱۰]. نتایج به دست آمده، در تایید عملکرد بهتر بیوراکتورهای دوفازی-توزیعی نسبت به فیلترهای زیستی عادی در زمینه‌ی ظرفیت حذف^۱ و پایداری فرایند تخریب زیستی ترکیبات آب‌گریز است [۲]. نتایج تخریب زیستی همزمان هگزان و متانول در سامانه ناپیوسته حاکی از اثر مثبت روغن سیلیکون بر انتقال جرم هگزان و افزایش کارایی حذف آن است درحالی‌که کارایی حذف متانول را کاهش داده است [۱۱ و ۱۲].

مرور مطالعات پیشین نشان می‌دهد که هرچند استفاده از روغن سیلیکون یا مواد سطح‌فعال مختلف برای بهبود تخریب زیستی ترکیبات آب‌گریز گزارش شده است، اما تاکنون بهینه‌سازی عوامل موثر بر تخریب زیستی و مقایسه بین روغن سیلیکون و مواد سطح‌فعال متفاوت از نظر ماهیت زیستی و شیمیایی و همچنین متفاوت از نظر غیریونی و یونی بودن بر تخریب زیستی غلظت‌های بالای هگزان صورت نگرفته از این رو هدف پژوهش حاضر، بررسی میزان و سرعت تخریب زیستی غلظت‌های بالای هگزان در حضور غلظت‌های مختلفی از روغن سیلیکون، به عنوان رایج‌ترین فازغیرآبی مورد استفاده، ساپونین به عنوان یک ماده سطح‌فعال زیستی غیریونی و سدیم‌دودسیل سولفات^۲ به عنوان شناخته شده‌ترین ماده سطح‌فعال شیمیایی و آنیونی است.

بخش تجربی

مواد و ریزاندامگان

هگزان با خلوص ۸۵٪ از شرکت نوترون، ساپونین و سدیم دودسیل سولفات (۹۸٪ خلوص) از شرکت سیگما و روغن سیلیکون (۱۰cSt) از شرکت روغن صنعت آروشا تهیه شد. محیط نمک‌های معدنی، متشکل از عناصر پرمقدار، محلول ویتامین‌ها و عناصر کم‌مقدار [۳] به عنوان محیط کشت در این پژوهش استفاده شده است. یک کشت مخلوط جداشده از لجن فعال تصفیه‌خانه جنوب تهران که قبلاً به مصرف هگزان سازگار شده بود، به عنوان ریزاندامگان موثر در تخریب زیستی هگزان استفاده شدند. سازگاری ریزاندامگان به مصرف هگزان در یک دوره سه ماهه و با افزایش تدریجی غلظت هگزان در فاز گاز داخل ویال از ۳ تا ۳۰ گرم بر مترمکعب و ثابت نگه داشتن pH در بازه ۷-۶/۵ انجام گرفت. رسیدن توانایی جمعیت میکروبی به تخریب زیستی ۹۰٪ از هگزان موجود ملاک پایان یافتن دوره سازگاری در هر غلظت اولیه در نظر گرفته شد. این عمل سه بار تکرار شد و نتایج مشابهی به دست آمد. به منظور بررسی دقیق‌تر

(۱) Elimination Capacity (EC)

(۳) Serial Dilution

(۵) Critical Micelle Concentration (CMC)

(۲) Sodium Dodecyl Sulphate (SDS)

(۴) Head Space Method

(۶) Light Scattering

و با درب آلومینیومی کاملاً آب بندی شده و به مدت ۷ روز در گرم خانه لرزان قرار داده شدند. عوامل ثابت نیز دما 30°C ، دور ۱۵۰ rpm و pH برابر مقدار ۷-۶/۵ بودند [۴]. در هر گروه از آزمایش‌ها دو نمونه شاهد تهیه شد که غلظتی برابر با غلظت هگزان در نقاط مرکزی^۳ داشتند، برای اطمینان از این که تخریب‌زیستی مشاهده شده در آزمایش‌ها ناشی از حضور ریزاندامگان است و درسامانه نشی وجود ندارد یکی از نمونه‌ها را فاقد ریزاندامگان در نظر گرفته و برای بررسی تخریب‌زیستی در عدم حضور روغن سیلیکون و ماده سطح‌فعال نمونه شاهد دیگر فاقد روغن سیلیکون یا ماده سطح‌فعال بود. در بازه‌های زمانی معین غلظت هگزان و کربن‌دی‌اکسید توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی تعیین شدند. در روز هفتم نیز غلظت زیست توده و pH هر یک از ویال‌ها اندازه‌گیری شدند. برای ارزیابی دقت و اعتبار نتایج آزمایشگاهی، کلیه‌ی آزمایش‌ها با سه بار تکرار انجام و نتیجه میانگین در جدول‌ها گزارش شد.

آزمایش‌های تخریب‌زیستی و سمیت برای روغن سیلیکون، ساپونین و سدیم دودسیل سولفات

برای مطالعه احتمال تخریب‌زیستی روغن یا مواد سطح‌فعال توسط ریزاندامگان‌ها، رفتار ریزاندامگان در عدم حضور منبع کربنی سازگار به آن به‌عنوان یک آزمایش شاهد بررسی شد. ویال‌ها مشابه آزمایش‌های اصلی با درصد تلقیح و غلظت‌های مشابه از روغن سیلیکون و مواد سطح‌فعال، آماده شدند. نمونه شاهد در شرایط مشابه و تنها با این تفاوت که عاری از مواد سطح‌فعال و روغن سیلیکون بود تهیه و به مدت هفت روز غلظت کربن‌دی‌اکسید در بازه‌های زمانی معین اندازه‌گیری شد. اگر مقدار کربن‌دی‌اکسید تولید شده از کربن‌دی‌اکسید نمونه شاهد بیشتر باشد به این معنی است که ماده افزوده شده قابلیت تخریب توسط ریزاندامگان را دارد [۴]. آزمایش سمیت در عدم حضور هگزان و در محیط کشت حاوی گلوکز (۱ g/L)، پپتون (۰/۰۲ g/L) و عصاره مخمر (۰/۰۲ g/L) انجام شد. نسبت CO_2 تولیدی در هر یک از آزمایش‌ها به CO_2 تولیدی در نمونه شاهد (حاوی ریزاندامگان و فاقد روغن سیلیکون یا ماده سطح‌فعال) محاسبه شد. اگر این نسبت، اختلاف بیش از ۵۰ درصد با عدد یک داشته باشد، به معنی اثر سمیت بر ریزاندامگان است [۴].

نتیجه‌ها و بحث

تخریب‌زیستی هگزان در حضور روغن سیلیکون به عنوان فاز غیر آبی
پس از وارد کردن نرخ تخریب‌زیستی ویژه (SDR) به عنوان پاسخ در نرم افزار، مدل خطی به دلیل دارا بودن کمترین p-value توسط نرم‌افزار پیشنهاد شد. p-value مدل کمتر از ۰/۱ و $R^2 = ۰/۹۳۳۴$ بوده

به روش هدایت‌سنجی الکتریکی اندازه‌گیری شد [۱۵]. ابتدا یک محلول با غلظت ۸۰۰۰ mg/L سدیم دودسیل سولفات در محیط کشت تهیه شد و به مقدار لازم در ظرف‌های به حجم ۶۰ mL برای تهیه هشت غلظت متفاوت در محدوده ۲۰۰۰-۱۰۰۰ mg/L انتقال داده شد. دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی با ۰/۱ M KCl کالیبره شد، سپس مقدار هدایت الکتریکی غلظت‌های مختلف در دمای ثابت 30°C اندازه گرفته شد و نمودار هدایت الکتریکی برحسب غلظت SDS رسم شد. در غلظت ۱۵۰۰ mg/L (۵/۲ mM) روند هدایت الکتریکی از حالت کاهشی به افزایشی تغییر یافت. بنابراین نقطه مورد نظر، نمایانگر غلظت CMC ۱ برای ماده SDS بود.

طراحی آزمایش برای بررسی اثر روغن سیلیکون و مواد سطح‌فعال بر نرخ تخریب‌زیستی ویژه هگزان^۱

برای بررسی اثر حضور روغن سیلیکون، ساپونین و سدیم‌دودسیل سولفات بر میزان نرخ تخریب‌زیستی ویژه هگزان و یافتن شرایط بهینه، طراحی آزمایش به صورت جداگانه برای هر ماده از روش سطح پاسخ طراحی مرکب مرکزی^۲ و با استفاده از نرم افزار (Design Expert version 7.0) انجام شد. در این طراحی هریک از این عوامل در پنج سطح مورد بررسی قرار گرفتند، نرخ تخریب‌زیستی ویژه هگزان به عنوان پاسخ و سطح اطمینان برابر با ۹۰٪ در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که نرخ تخریب‌زیستی ویژه هگزان بیانگر نسبت نرخ مصرف هگزان به غلظت اولیه توده زیستی است. باتوجه به پژوهش‌های مختلف بررسی شده، توانایی ریزاندامگان سازگار شده به هگزان و شرایط آزمایش، غلظت هگزان در محدوده ۷-۵۵ g/m³ در نظر گرفته شد. درصد استفاده از روغن سیلیکون به طور معمول ۲۰-۵٪ است [۹]. که برای بررسی کامل‌تر، در این پژوهش مقدار روغن سیلیکون در بازه ۱-۲۰٪ v/v تغییر داده شد. به منظور بررسی اثر مواد سطح‌فعال در یک محدوده قابل قبول، سطوح مختلف غلظت این مواد به صورتی انتخاب شد که دو غلظت بالاتر از مقدار CMC ۱ و دو غلظت پایین‌تر از آن بررسی شود. در هر طراحی آزمایش با در نظر گرفتن شش نقطه مرکزی، چهارده آزمایش توسط نرم افزار طراحی شد. در جدول‌های ۱، ۲ و ۳ آزمایش‌های طراحی شده به همراه پاسخ آن‌ها ارائه شده است. برای انجام آزمایش‌ها یک سوسپانسیون میکروبی با چگالی نوری برابر با ۱ از منبع میکروبی سازگار شده با هگزان به عنوان مایه تلقیح تهیه شد. ظروف آزمایش ویال‌هایی با حجم ۱۱۷ mL، حاوی ۱۸ mL محیط کشت به همراه غلظت‌های معینی از روغن سیلیکون، ساپونین یا SDS مطابق مقادیر حاصل از طراحی آزمایش و ۲ mL مایه تلقیح بودند. غلظت‌های مشخص شده هگزان در طراحی آزمایش، توسط سرنگ مایع همیلتون به ویال‌ها تزریق شد

(۱) Specific Degradation Rate (SDR)

(۳) Center Points

(۲) Central Composite Design (CCD)

جدول ۱ - طراحی آزمایش به منظور بررسی تخریب زیستی هگزان در حضور روغن سیلیکون

شماره آزمایش	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴
غلظت هگزان (A) (g/m ³)	۳۱	۳۱	۵۵	۳۱	۳۱	۱۹	۴۳	۳۱	۷	۳۱	۴۳	۳۱	۳۱	۱۹
درصد حجمی روغن سیلیکون (B) (v/v)	۱	۱۰	۱۰	۲۰	۱۰	۵	۵	۱۰	۱۰	۱۰	۱۵	۱۰	۱۰	۱۵
نرخ تخریب زیستی ویژه هگزان (mg hex/g biomass .h)	۵/۳	۴/۱	۷/۳	۳/۲	۴/۸	۲/۶	۵/۹	۴/۶	۱/۱	۴/۱	۵/۷	۴/۸	۴/۸	۲/۹
غلظت زیست توده تولیدی (mg/L)	۸۱/۸	۸۴/۷	۹۰/۵	۸۷/۶	۸۱/۸	۷۸/۸	۸۴/۷	۸۴/۷	۷۵/۹	۸۴/۷	۷۳	۷۵/۹	۷۸/۸	۷۸/۸

*نرخ تخریب زیستی ویژه از تقسیم نرخ مصرف آلاینده به غلظت اولیه توده‌ی زیستی به دست می‌آید.

جدول ۲ - طراحی آزمایش به منظور بررسی تخریب زیستی هگزان در حضور ساپونین

شماره آزمایش	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴
غلظت هگزان (A) (g/m ³)	۷	۳۱	۳۱	۱۹	۳۱	۴۳	۳۱	۳۱	۵۵	۴۳	۳۱	۱۹	۳۱	۳۱
غلظت ساپونین (B) (CMC)	۱	۲	۱	۰/۵	۱	۰/۵	۱	۱	۱	۱/۵	۱	۱/۵	۱	۰/۰۵
نرخ تخریب زیستی ویژه هگزان (mg hex/g biomass .h)	۸/۶	۱۶/۴	۱۹/۴	۱۹/۷	۱۹/۳	۲۵/۳	۱۸/۹	۱۹/۱	۲۰/۱	۱۷/۲	۱۹/۵	۱۳/۹	۱۸/۵	۲۸/۶
غلظت زیست توده تولیدی (mg/L)	۱۴/۶	۵۲/۶	۴۰/۹	۲۰/۴	۴۰/۹	۴۶/۷	۳۷/۹	۴۳/۸	۷۸/۸	۷۰/۱	۴۰/۹	۳۲/۱	۴۶/۷	۲۹/۲

جدول ۳ - طراحی آزمایش به منظور بررسی تخریب زیستی هگزان در حضور سدیم دودسیل سولفات

شماره آزمایش	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴
غلظت هگزان (A) (g/m ³)	۷	۱۹	۳۱	۳۱	۴۳	۳۱	۳۱	۳۱	۵۵	۱۹	۳۱	۴۳	۳۱	۳۱
غلظت SDS (B) (CMC)	۱	۰/۵	۱	۱	۱/۵	۱	۱	۱	۱/۵	۱	۰/۰۵	۰/۵	۲	۱

باعث بهبود فرایند شده است. به طور مثال در آزمایشی که توسط داراک و همکاران^۱ انجام شد، استفاده از روغن سیلیکون به عنوان فاز غیرآبی منجر به بازده حذف نزدیک به ۹۰٪ برای تولوئن و ۷۵٪ برای دی‌متیل‌دی‌سولفید شد [۱۶]. بررسی حذف هگزان توسط لبرو و همکاران در یک بیوراکتور دوفازی-توزیعی در سه حالت بدون روغن سیلیکون و در حضور ۱۰٪ و ۲۰٪ حجمی/حجمی روغن سیلیکون نشان دهنده این بود که افزودن ۱۰٪ v/v روغن سیلیکون به بیوراکتور، حذف هگزان را به طرز محسوسی تا ۷۲٪ نسبت به حالت بدون روغن افزایش داد. با این وجود با افزایش ۱۰٪ v/v روغن سیلیکون به بیوراکتور، بهبودی نسبت به حالت ۱۰٪ v/v مشاهده نشد که می‌تواند ناشی از کاهش شدید ظرفیت نگه داشتن آب آکنه‌ها و همچنین نقش روغن سیلیکون در کانالی شدن بستر باشد [۱۷]. با مقایسه نتایج مقاله حاضر با مطالعه‌ای که در آن روغن سیلیکون با غلظت ۱۰٪ v/v باعث افزایش ۳۸ درصدی نرخ تخریب زیستی بنزن در یک بیوراکتور همزن‌دار^۲ با حداکثر غلظت بنزن ۵/۵ g/m³ شد [۱۸]. تاثیر نوع سیستم تصفیه و غلظت اولیه آلاینده مشخص‌تر می‌شود. در واقع غلظت بالای هگزان و نوع سیستم ناپیوسته از عوامل اثرگذار در نتایج متفاوت پژوهش حاضر با مطالعات دیگر بود. در مطالعه نورمحمدی و همکاران، تخریب زیستی تولوئن در حضور غلظت‌های مختلف روغن سیلیکون بررسی شد.

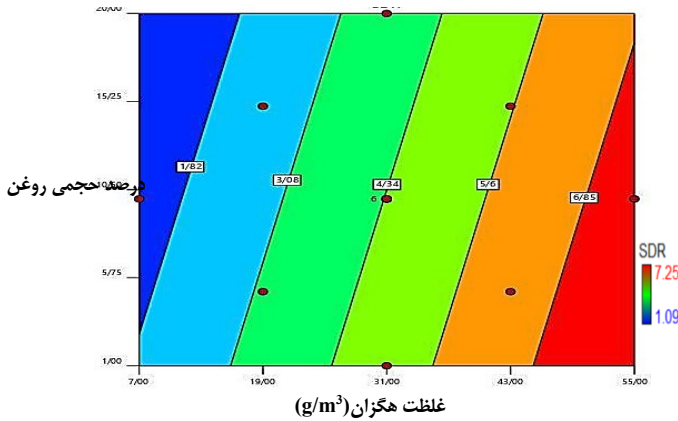
که نشان از تطابق خوب مدل با داده‌های آزمایشگاهی داشت. با بررسی مدل، رابطه ۱، مشخص است که به علت مثبت بودن ضریب عامل غلظت هگزان (A)، افزایش غلظت هگزان به افزایش نرخ تخریب ویژه در حضور روغن سیلیکون کمک می‌کند. این امر ناشی از جذب بالای هگزان توسط روغن سیلیکون و افزایش زیست‌دسترس‌پذیری آن است. همچنین نشان می‌دهد که ریزاندامگان توانایی تخریب غلظت‌های بیشتری از هگزان را دارد و به نوعی سینتیک تخریب زیستی تابع غلظت هگزان است.

$$SDR = 4.34 + 1.54A - 0.34B \quad (۱)$$

با افزایش غلظت هگزان و کاهش درصد حجمی روغن سیلیکون مقدار SDR حداکثر است و در غلظت‌های ثابت هگزان با افزایش مقدار روغن سیلیکون، SDR کاهش می‌یابد که این موضوع در تایید با منفی بودن ضریب روغن سیلیکون (B) در مدل است. همچنین در مقادیر ثابت روغن سیلیکون، با افزایش غلظت هگزان، مقدار SDR افزایش می‌یابد که این موضوع می‌تواند به علت در دسترس بودن مقدار بیشتری از هگزان برای ریزاندامگان باشد. منفی بودن ضریب روغن سیلیکون در مدل نشان از اثر نامطلوب افزایش روغن سیلیکون بر فرایند تخریب زیستی هگزان دارد (شکل ۱). تقریباً در تمام فرایندهای تخریب زیستی مواد آلی فرار آب‌گریز، حضور روغن سیلیکون

(۱) Darracq et al.

(۲) Stirred Tank Bioreactor



شکل ۱- منحنی‌های پاسخ برای تعیین اثر تغییرات غلظت هگزان و روغن سیلیکون بر نرخ تخریب زیستی ویژه هگزان

۲- تفاوت در نوع فرایند سیستم‌های تصفیه هگزان به صورت پیوسته یا ناپیوسته که باعث تفاوت در پراکندگی فازها و سطح تماس متفاوت بین فازهای هوا/مایع می‌شود که این موضوع می‌تواند منجر به تغییر نرخ جذب و انتقال جرم بین فاز می‌شود.

۳- تفاوت در میزان غلظت اولیه هگزان که در مطالعه حاضر غلظت‌های بالای هگزان در نظر گرفته شده است.

در بهینه‌سازی، هدف پیدا کردن غلظت‌هایی از پارامترهای موثر در مدل پیشنهادی است که موجب حداکثر شدن پاسخ می‌شوند، مقادیر بهینه برای غلظت هگزان 54 g/m^3 و برای غلظت روغن سیلیکون $2\% \text{ v/v}$ به دست آمد که نرخ تخریب ویژه برابر با $8/02 \text{ (mg}_{\text{hex}}/\text{g}_{\text{biomass}}\cdot\text{h})$ را پیش‌بینی کرد. به منظور تایید نتایج بدست آمده از مدل و آزمایش‌ها، آزمایش اعتبارسنجی در شرایط بهینه انجام شد که با به دست آمدن $7/9 \text{ (mg}_{\text{hex}}/\text{g}_{\text{biomass}}\cdot\text{h})$ برای SDR و قرار گرفتن این عدد در محدوده مشخص شده در بهینه‌سازی، صحت بهینه‌سازی و مدل تایید شد.

آزمایش‌های زیست‌تخریب‌پذیری و سمیت روغن سیلیکون به عنوان فاز غیر آبی
با توجه به عدم تولید کربن‌دی‌اکسید در آزمایش‌های زیست‌تخریب‌پذیری، مجموعه میکروبی مورد استفاده در این پژوهش قابلیت تخریب روغن سیلیکون را به عنوان منبع کربن نداشته‌اند. در بسیاری از پژوهش‌ها، عدم تخریب‌پذیری روغن سیلیکون توسط ریزاندامگان گزارش شده است. به عنوان مثال هیچ گونه اثر تخریب‌پذیری و سمیت برای روغن سیلیکون در پژوهشی که توسط گالیندو و همکاران^۲ انجام شده بود، مشاهده نشده است [۴]. تخریب‌پذیری ترکیبات تابعی از خواص آن‌ها، شرایط محیطی، توانایی مجموعه میکروبی و غیره است [۱۹].

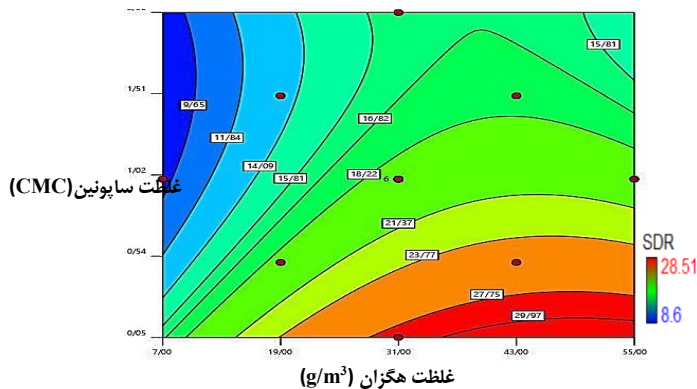
با توجه به اینکه نسبت تولیدی CO_2 در هریک از آزمایش‌ها به CO_2 تولیدی در نمونه شاهد اختلاف زیادی با عدد یک ندارد

ظرفیت حذف با افزایش درصد حجمی روغن سیلیکون ابتدا به سرعت رشد کرد و پس از مقدار $1/1\% \text{ v/v}$ تقریباً ثابت شد. همچنین نتایج نشان داد که روغن سیلیکون در غلظت‌های بالاتر از $1/1\% \text{ v/v}$ باعث کاهش رشد میکروبی و افت تخریب زیستی شده است [۸]. در پژوهش حاضر با توجه به اینکه SDR حاصل از نمونه شاهد (فاقد روغن سیلیکون) تقریباً دو برابر بیشینه SDR حاصل از آزمایش‌های در حضور روغن سیلیکون است، مشخص می‌شود که کارایی ریزاندامگان در حالت تک فازی بیشتر از حالت دوفازی است، این نتیجه گویای این است که ریزاندامگان استفاده شده، توانایی زیادی در حذف هگزان دارند و در واقع ریزاندامگان به محدودیت سینتیکی^۱ نرسیده‌اند. لذا در حالت تک فازی به راحتی هگزان را به مصرف می‌رسانند و افزودن روغن سیلیکون کمک اثربخشی ندارد. برای تفسیر نتایج آزمایش‌های روغن سیلیکون دو فرضیه وجود دارد: احتمالاً مجموعه میکروبی استفاده شده در پژوهش حاضر توانایی تولید ماده سطح‌فعال زیستی را داشته و با کاهش کشش سطحی محیط، منجر به افزایش زیست‌دسترس‌پذیری هگزان و تخریب زیستی بالای آن در عدم حضور روغن سیلیکون شده است. در واقع افزودن روغن سیلیکون با ایجاد تغییراتی در محیط آزمایش، تناسب میان زیست‌دسترس‌پذیری هگزان و توانایی ریزاندامگان برای تخریب آن را مختل و با برهم‌زدن تعادل بین فرایندهای جذب سلولی و توزیع فازها موجب کاهش نرخ تخریب زیستی شده است. از طرفی با توجه به این که غلظت‌های بالای هگزان در این پژوهش بررسی شده است، در چنین غلظت‌هایی حضور روغن سیلیکون موجب بالارفتن بیش از اندازه غلظت هگزان در محیط مایع و رخ دادن بازدارندگی می‌شود. بررسی غلظت‌های هگزان در محیط مایع حاکی از آن است که در مقادیر یکسان هگزان در حضور $1/1\% \text{ v/v}$ و $1\% \text{ v/v}$ روغن سیلیکون، غلظت اولیه هگزان در مایع به ترتیب برابر با $0/072 \text{ g/L}$ و $0/026 \text{ g/L}$ بوده، در حالی که در عدم حضور روغن سیلیکون این مقدار برابر با $0/0044 \text{ g/L}$ بوده است. اختلاف چشمگیر غلظت هگزان در حضور روغن سیلیکون و عدم حضور آن (تا حدود ۱۶۰ برابر) به معنی افزایش فشار جزئی مؤثر بر سلول‌ها و ایجاد بازدارندگی غلظتی است. بنابراین می‌توان گفت نقش روغن سیلیکون از جذب‌کننده به تغلیظ‌کننده و بازدارنده تغییر یافته است. تفاوتی که در نتایج استفاده از روغن سیلیکون در مطالعات گذشته مانند پژوهش‌های مونیوز و همکاران [۶]، لبررو همکاران [۱۰]، داراک و همکاران [۱۶] و پژوهش حاضر وجود دارد می‌تواند ناشی از عوامل زیر باشد:

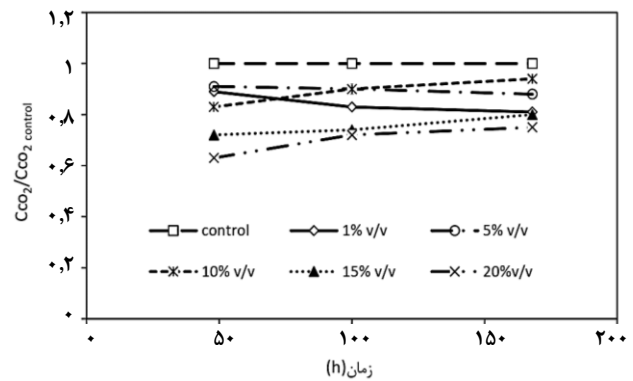
۱- تفاوت در نوع مجموعه میکروبی و توانایی‌های آن، مانند تولید مواد سطح‌فعال زیستی.

(۱) Kinetic Limitation

(۲) Galindo et al.



شکل ۳ - منحنی‌های پاسخ برای تعیین اثر تغییرات غلظت هگزان و ساپونین بر نرخ تخریب زیستی ویژه هگزان



شکل ۲ - مقایسه کربن دی‌اکسید حاصل از آزمایش‌های سمیت در غلظت‌های مختلف روغن سیلیکون

بر بازده حذف هگزان در فیلترهای زیستی چکنده، حاکی از آن بود که ساپونین با غلظت ۵۰ mg/L (۱/۲۵ CMC)، بازده حذف هگزان در این سامانه را از ۶۱٪ به ۸۸٪ افزایش داده است. درحالی که در غلظت‌های بالاتر ساپونین، افت بازده حذف مشاهده شد. یکی از دلایل احتمالی اثر نامطلوب ساپونین در غلظت‌های بالا این است که ساپونین در غلظت‌های زیاد می‌تواند با منبع کربن اصلی سامانه رقابت کند و تخریب زیستی آن را تحت تاثیر قرار دهد [۴]. رقابت ساپونین با منبع کربن اصلی همچنین در مطالعه‌ی گونزالز و همکاران^۲ هم گزارش شده است. در این پژوهش تخریب زیستی هگزان در حضور ساپونین در یک فیلتر زیستی^۳ بررسی شده، افزایش رشد زیست‌توده به مقدار قابل توجه در حضور ساپونین با غلظت ۱ CMC رخ داده که ناشی از مصرف ساپونین به عنوان منبع کربن ثانویه بیان شده است. این خاصیت، استفاده از ساپونین را در فیلترهای زیستی محدود می‌کند [۲۰]. اثر مثبت مشاهده شده در برخی مقالات، متفاوت با اثر منفی ناشی از حضور ساپونین در پژوهش حاضر است که این موضوع می‌تواند مربوط به تفاوت در نوع مجموعه میکروبی و نوع کشت میکروبی (غوطه‌ور و چسبیده) باشد. اما درباره غلظت‌های بالاتر از ۱ CMC نتیجه مشابهی وجود دارد که نشان‌دهنده اثر نامطلوب غلظت‌های بالای ساپونین است. این اثر می‌تواند ناشی از محاصره آلاینده توسط مایسل‌ها و در دسترس نبودن منبع کربن برای تخریب زیستی باشد [۱۶]. همچنین ماهیت زیستی ساپونین می‌تواند منجر به رقابت آن با منبع کربن اصلی در غلظت‌های زیاد شود [۲۱ و ۲۲]. نتایج استفاده از ساپونین در تخریب زیستی هگزان و تولون در یک فیلتر زیستی چکنده حاکی از اثر مثبت آن در غلظت‌های ۱ CMC و ۰/۵ CMC بوده ولی در غلظت‌های بالاتر مانند ۳ CMC، اثر منفی داشته و باعث پدیده کف‌زایی^۴ در فیلتر زیستی شده است که ناشی از تشکیل مایسل‌های پایدار و ایجاد اختلال در پدیده انتقال جرم بین دو فاز مایع و گاز بیان شده است [۲۳].

یعنی اثر سمیت روغن سیلیکون بر ریزاندامگان قابل چشم‌پوشی است. با افزایش درصدحجمی روغن سیلیکون اثر سمیت بیشتر می‌شود ولی در کل می‌توان گفت اثر سمیت روغن سیلیکون ناچیز است (شکل ۲).

تخریب زیستی هگزان در حضور ساپونین به عنوان ماده سطح‌فعال غیر یونی

پس از وارد کردن نرخ تخریب زیستی ویژه (SDR) به عنوان پاسخ در نرم افزار، مدل Quadratic به دلیل دارا بودن کمترین p-value توسط نرم‌افزار پیشنهاد شد. p-value مدل کمتر از ۰/۱ و $R^2=0/9924$ بوده که نشان از تطابق خوب مدل با داده‌های آزمایشگاهی داشت. با افزایش غلظت هگزان و کاهش غلظت ساپونین، مقدار SDR حداکثر است و در غلظت‌های ثابت هگزان، با افزایش مقدار ساپونین، SDR کاهش می‌یابد که این موضوع در تایید با منفی بودن ضریب ساپونین در رابطه ۲ است. در غلظت‌های بالاتر از ۱ CMC، اثر منفی ساپونین بیشتر است. به عنوان مثال اگر دو غلظت ۱/۵ CMC و ۰/۵ CMC مقایسه شوند، در غلظت ۱/۵ CMC و با افزایش غلظت هگزان، تغییرات کمتری از پاسخ نسبت به غلظت ۰/۵ CMC مشاهده می‌شود. در واقع شکل سطوح پاسخ و پهن تر شدن آن‌ها با افزایش غلظت ساپونین نشان‌دهنده این است که حتی در غلظت‌های بالای هگزان، اگر غلظت ساپونین بیشتر از مقدار ۱ CMC باشد، بهبودی در میزان SDR رخ نمی‌دهد (شکل ۳). در نتیجه افزایش غلظت ساپونین مخصوصاً در مقادیر بالاتر از ۱ CMC، روی SDR اثر منفی دارد. مقادیر بهینه برای غلظت هگزان ۴۵ g/m³ و برای غلظت ساپونین ۰/۰۶ CMC بدست آمد، با توجه به این که نتایج آزمایش اعتبارسنجی در محدوده اطمینان قرار داشت، صحت بهینه سازی و مدل تایید شد.

$$SDR = 18.94 + 2.63A - 3.12B - 0.55AB - 1.17A^2 + 0.90B^2 \quad (2)$$

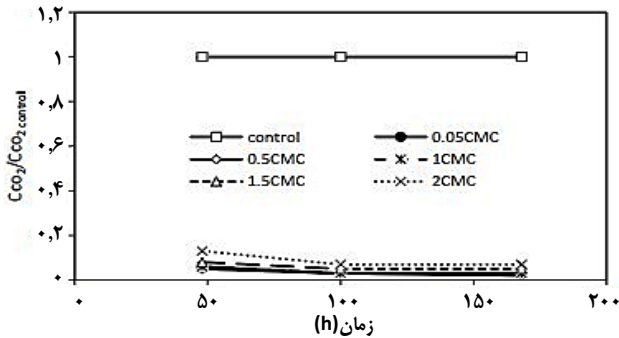
استفاده از ساپونین در کاربردهای تصفیه آلاینده‌های هوا به ندرت گزارش شده است. نتایج مطالعه‌ای برای بررسی اثر حضور ساپونین

(۱) Biotrickling Filters (BTFS)

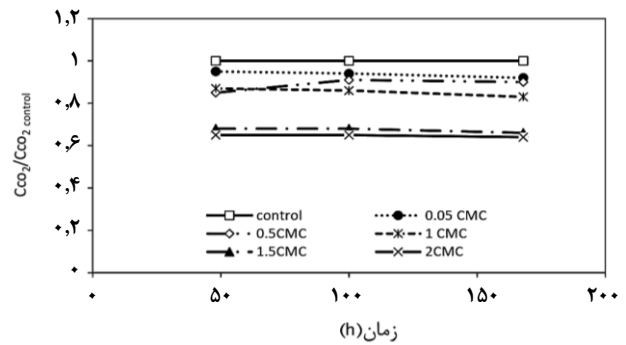
(۳) Biofilter (BF)

(۲) Gonzalez et al.

(۴) Foaming



شکل ۶- مقایسه کربن دی‌اکسید حاصل از آزمایش‌های سمیت در غلظت‌های مختلف SDS

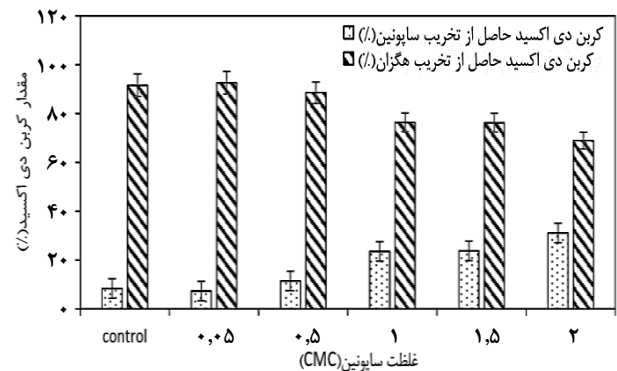


شکل ۴- مقایسه کربن دی‌اکسید حاصل از آزمایش‌های سمیت در غلظت‌های مختلف ساپونین

تایید شده، درحالی‌که سمیت آن در محدوده آزمایش قابل چشم‌پوشی بوده‌است. بهترین غلظت SDS در این سامانه (۱/۸۵ mg/L) را از ۴۳٪ به ۶۰٪ افزایش داده است [۲۴]. در پژوهشی که نقش SDS به‌عنوان یک ماده سطح‌فعال آنیونی در تخریب زیستی نرمال هگزادکان بررسی شد، نتایج نشان داد که تأثیر مثبت SDS در مقایسه با مواد سطح‌فعال غیربیونی مانند توپین ۲۰ و توپین ۸۰ به‌مراتب کمتر و حتی محدودکننده‌تر بوده‌است. این اختلاف، بیانگر آن است که SDS اثر سمیت نسبی بر فعالیت میکروبی داشته‌است؛ به‌ویژه در جدایه‌های سطح‌فعال غیربیونی تحمل بالاتری نشان داده‌اند. در واقع SDS به‌دلیل بار منفی و توان بالای تجزیه پروتئین‌ها می‌تواند موجب اختلال در غشاء سلولی و کاهش زیست‌توده فعال شود. از این‌رو، در غلظت‌های نزدیک یا بالاتر از ۱ CMC معمولاً باعث افت رشد و فعالیت آنزیمی سیستم‌های تخریب زیستی هیدروکربن‌ها می‌شود. در این مقاله، نقش SDS نسبت به دو ماده سطح‌فعال دیگر، عمدتاً منفی و محدودکننده بوده و کارایی تخریب زیستی در حضور آن حدود ۳۰-۴۰٪ کمتر از توپین ۸۰ گزارش شده است [۲۵]. اثر منفی SDS در پژوهش ذکر شده، مشابه تأثیر آن بر فرایند تخریب زیستی هگزادکان در مطالعه حاضر است و هرچند که شدت اثر آن در پژوهش مرتبط با تخریب زیستی نرمال هگزادکان کمتر است، اما دلایل و تحلیل‌های ذکر شده مشابه است. براساس دیگر مطالعات انجام شده هم مواد سطح‌فعال آنیونی مانند SDS دارای اثرات سمیت و بازدارندگی بر رشد ریزاندامگان هستند [۲۶ و ۲۷].

آزمایش‌های زیست‌تخریب‌پذیری و سمیت SDS به‌عنوان ماده سطح‌فعال آنیونی

باتوجه به عدم تولید CO₂ در هیچ‌کدام از آزمایش‌های تخریب‌پذیری، مشخص شد که ریزاندامگان استفاده شده در این پژوهش قابلیت تخریب SDS به‌عنوان منبع کربن را نداشته‌اند. SDS در تمام غلظت‌های استفاده‌شده منجر به کاهش قابل توجه کربن دی‌اکسید تولیدی شده و برای ریزاندامگان سمی بوده‌است (شکل ۶). سمیت این ماده بر ریزاندامگان می‌تواند ناشی از انحلال پروتئین‌های غشای سلولی

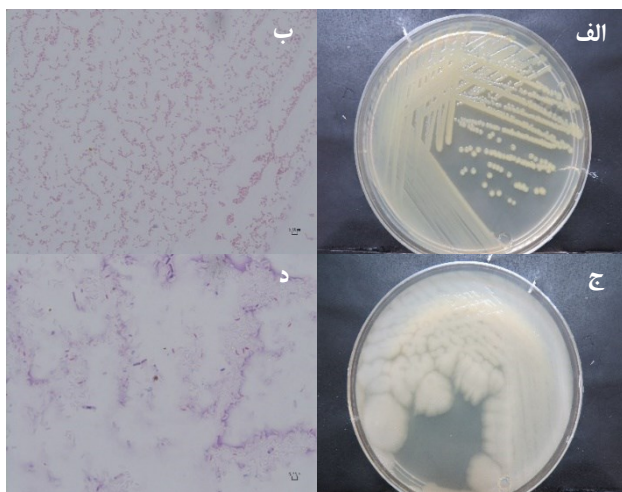


شکل ۵- مقایسه کربن دی‌اکسید حاصل از تخریب زیستی هگزادکان و ساپونین

آزمایش‌های زیست‌تخریب‌پذیری و سمیت ساپونین به‌عنوان ماده سطح‌فعال غیربیونی با افزایش غلظت ساپونین، اثر سمیت آن بیشتر می‌شود ولی در کل می‌توان گفت اثر سمیت ساپونین ناچیز است (شکل ۴). همچنین قابلیت تخریب زیستی ساپونین در غلظت‌های بالاتر از ۱ CMC وجود دارد که توضیحی برای اثر منفی مشاهده شده در این پژوهش برای غلظت‌های بالاتر از ۱ CMC ساپونین است (شکل ۵).

تخریب زیستی هگزادکان در حضور SDS به‌عنوان ماده سطح‌فعال آنیونی

در این آزمایش‌ها کاهش قابل توجه هگزادکان مشاهده نشد و از طرفی افزودن SDS موجب تغییر در کدورت و شکل ظاهری (صابونی شدن) محلول شد. در واقع افزایش کدورت، ناشی از رشد ریزاندامگان نبوده و نتیجه‌ای که از دستگاه اسپکتروفوتومتر حاصل می‌شد قابل استفاده در رابطه SDR نبود. به همین دلیل، نتیجه‌ای برای کاهش غلظت هگزادکان و رشد ریزاندامگان به‌دست نیامد. همچنین کشت نمونه روی محیط آگار مغذی، عملاً رشد هیچ کلنی مشخصی را نشان نداد. نتایج حاصل از آزمایش‌ها، نشان از اثر بازدارندگی یا سمیت بر ریزاندامگان داشت. زیرا علاوه بر عدم کاهش غلظت هگزادکان، تولید کربن دی‌اکسید هم رخ نداد. بنابراین SDS در تمام محدوده غلظتی خود موجب متوقف شدن فرایند تخریب زیستی شده بود. در مطالعه‌ای که اثر SDS بر حذف هگزادکان در یک فیلتر زیستی چکنده بررسی شده بود، تخریب‌پذیری SDS توسط ریزاندامگان



شکل ۷ - تصویر (الف) ماکروسکوپی و (ب) میکروسکوپی جدایه شماره ۱ و تصویر (ج) ماکروسکوپی و (د) میکروسکوپی جدایه شماره ۲

مواد سطح فعال تولید شده به طور موثر تخریب زیستی هیدروکربن‌های نفتی را تا ۹۴٪ افزایش دادند و گزینه مناسبی برای زیست‌پالایی هیدروکربن‌های نفتی محسوب شدند [۳۴]. باسیلوس سرئوس همچنین در یک محیط حاوی ۲٪ روغن سرخ‌کردنی و ۰/۱۲٪ پیتون برای تولید مواد سطح فعال زیستی کشت داده شد. محصول به دست آمده یک ماده سطح فعال آنیونی و زیست‌سازگار بود که طبق نتایج در زیست‌پالایی محیط‌های دریایی آلوده به نشت مواد نفتی می‌تواند موثر و کاربردی باشد [۳۵].

نتیجه‌گیری

تخریب زیستی هگزان به عنوان یک ترکیب آلی فرار در غلظت ۷-۵۵ g/m³، در حضور ساپونین، روغن سیلیکون و SDS بررسی شد. حضور ساپونین به عنوان ماده سطح فعال غیریونی مخصوصاً در غلظت‌های بالاتر از ۱ CMC بر تخریب زیستی هگزان اثر منفی داشت و غلظت بهینه آن ۰/۰۶ CMC تعیین شد. مجموعه ریزاندامگان استفاده شده در این پژوهش توانایی تخریب زیستی ساپونین در غلظت‌های بالاتر از ۱ CMC را داشتند. همچنین اثر سمیت ساپونین در این محدوده غلظتی افزایش می‌یافت. SDS به عنوان ماده سطح فعال آنیونی، به دلیل سمیت شدید در تمام محدوده غلظتی به کاررفته در این پژوهش، تخریب زیستی هگزان را متوقف کرد. با این وجود که روغن سیلیکون مانند ساپونین قابل تخریب نیست و اثر سمیت مشابهی با آن دارد، اما اثر منفی بیشتری نسبت به ساپونین نشان داد. علت این اثر منفی را در افزایش بیش از اندازه زیست‌دسترسی پذیری هگزان می‌توان یافت. زیرا افزودن روغن سیلیکون موجب بالا رفتن غلظت اولیه هگزان در فاز مایع و بروز پدیده بازدارندگی شد.

و تخریب غشا، اثر بازدارندگی بر آنزیم‌های موثر در مسیر تخریب زیستی، تغییر نامطلوب خواص فیزیکی - شیمیایی محیط کشت باشد [۲۸]. مطالعات زیادی روی توانایی SDS برای انحلال پروتئین‌های غشا صورت گرفته است و نتایج حاکی از آن است که SDS در انحلال ترکیبات غشای سلولی موثر است [۲۹].

نتایج خالص‌سازی و شناسایی ریزاندامگان

پس از حذف جدایه‌های تکراری در نهایت دو جدایه متفاوت حاصل شد که یکی از آنها باسیل گرم منفی (گونه شماره ۱) و دیگری باسیل اسپوردار گرم مثبت (گونه شماره ۲) بود (شکل ۷). این دو جدایه به‌طور جداگانه در ویال‌هایی حاوی غلظت ۵ g/m³ بخار هگزان و در عدم حضور روغن سیلیکون یا مواد سطح فعال کشت داده شدند. جدایه دوم توانست در مدت ۲۴ ساعت، کل هگزان را مصرف کند در حالی که جدایه اول فقط حدود ۵۰٪ از هگزان را در همین مدت حذف کرد. بنابراین جدایه شماره ۲ برای شناسایی از طریق آزمون rDNA ۱۶ S به مرکز ملی ذخایر ژنتیکی ایران ارسال شد. نتایج به‌دست آمده تشابه ۱۰۰٪ با جدایه باسیلوس سرئوس ATCC 14579 را نشان داد. توانایی این جدایه در تخریب زیستی ترکیبات آلی مانند ۲۱-دی‌کلرومتان [۳۰] و هیدروکربن‌های چندحلقه‌ای آروماتیک (PAHs) [۳۱] قبلاً در مقالات گزارش شده است. در پژوهش صفری و همکاران، جدایه‌ای با نام *Bacillus cereus GYRND102* از خاک آلوده مجتمع پتروشیمی به‌منظور توانایی آن در تخریب تولوئن جداسازی شد. در تحلیل ژنومی این جدایه، با شناسایی مجموعه‌ای از ژن‌های بالقوه مرتبط با تخریب ترکیبات آروماتیک از طریق مسیر شکست متا، توانایی این جدایه در تخریب تولوئن تأیید شد. بنابراین این جدایه بومی می‌تواند برای تخریب زیستی تولوئن مورد استفاده قرار گیرد و استفاده از آن به دلیل سادگی فرایند و عدم نیاز به تجهیزات خاص، روشی مقرون‌به‌صرفه برای تصفیه پساب حاوی ترکیبات آروماتیک در مقیاس صنعتی تلقی می‌شود [۳۲]. گونه باسیلوس سرئوس از خاک آلوده به فرآورده‌های نفتی در جایگاه‌های عرضه بنزین جداسازی و شناسایی شد که قادر به حذف ۷۵٪ از ترکیبات نفتی بود. بررسی مسیرهای متابولیکی حاکی از وجود مسیرهای تخریب متان، متیل‌سیکلو هگزان، تولوئن، زایلن و بنزن در باسیلوس سرئوس بود [۳۳]. همچنین توانایی باسیلوس سرئوس در تولید مواد سطح فعال در مقالات گزارش شده است. به‌طور مثال، در مطالعه‌ای تولید مواد سطح فعال توسط گونه *Bacillus cereus GX7* و تاثیر آن بر پالایش آلودگی ناشی از گازوئیل در آب دریا بررسی شد و نتایج حاکی از آن بود که این گونه، قابلیت تولید مواد سطح فعال را با مصرف پسماندهای آلی محلول در آب مانند عصاره سبوس گندم به عنوان منبع کربن و نیتروژن دارد.

(۱) Meta-cleavage

بیشینه نرخ تخریب زیستی ویژه هگزان، در حضور مقادیر بهینه 54 g/m^3 هگزان و $2\% \text{ v/v}$ روغن سیلیکون بدست آمد. در پژوهش‌های آتی لازم است اثر حضور این مواد سطح‌فعال و روغن سیلیکون بر متابولیت‌های تولیدی توسط باکتری خالص شده و نیز اثر تغییر کشش سطحی محیط کشت بررسی شوند تا سازو کار حاکم بر پارامترهای سینتیک واکنش‌های بیوشیمیایی به‌طور دقیق‌تری تحلیل شوند.

مراجع

- [۱] محمدی، محمدسعید؛ میرزایی، بهروز؛ داوری، مهدی، مطالعه آزمایشگاهی حذف زیستی بنزن و تولوئن با *Aspergillus terreus* و *Exophiala xenobiotica*، نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران، (۱) ۴۱: ۳۳۵ تا ۳۴۶ (۱۴۰۱).
- [2] Cheng Y., He H., Yang Ch., Zeng G., Li X., Chen H., Yu G., [Challenges and Solutions for Biofiltration of Hydrophobic Volatile Organic Compounds](#), *Biotechnology Advances*, **34**(6): 1091-1102 (2016).
- [3] Sui H., An P., Li X., Cong S., He L., [Removal and Recovery of o-Xylene by Silica Gel using Vacuum Swing Adsorption](#). *Chemical Engineering Journal*, **316**:232-242 (2017).
- [4] Galindo H., Revah S., Cervantes F.J., Arriaga S., [Effect of Surfactant and Oil Additions in the Biodegradation of Hexane and Toluene Vapours in Batch Tests](#), *Environmental Technology*, **32**(2): 167-173 (2011).
- [5] Imane B., Couvert A., Amrane A., [Absorption and Biodegradation of Toluene: Optimization of Its Initial Concentration and the Biodegradable Non-Aqueous Phase Liquid Volume Fraction](#), *International Biodeterioration & Biodegradation*, **104**: 350-355 (2015).
- [6] Munoz R., Arriaga S., Hernández S., Guieysse B., Revah S., [Enhanced Hexane Biodegradation in a Two Phase Partitioning Bioreactor: Overcoming Pollutant Transport Limitations](#), *Process Biochemistry*, **41**(7): 1614-1619 (2006).
- [7] Wang Z., Liu L., Fan H., Ye D., Hrynsphan D., Savitskaya T., Weng X., Chen J., [Synergistic Enhancement of Hydrophobic N-Hexane Biodegradation in a Biotrickling Filter: Role of Hydrophilic VOCs in Mass Transfer and Extracellular Polymeric Secretion](#), *Environmental Pollution*, **375** (2025).
- [8] Nourmohammadi M., Karimi A., Golbabaei F., Pourmand M.R., Rahimi Foroushani A., Nourmohammadi E., [Biodegradation of Toluene in a Two-Phase Low-Pressure Bioscrubber using Silicone Oil as Organic Phase](#), *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, **103**(16): 4098-4110 (2021).
- [9] Muñoz R., Daugulis A. J., Hernández M. Quijano G., [Recent Advances in Two Phase Partitioning Bioreactors for the Treatment of Volatile Organic Compounds](#), *Biotechnology Advances*, **30**(6): 1707-1720 (2012).
- [10] Lebrero R., Hernández L., Pérez R., Estrada J.M., Muñoz R., [Two-Liquid Phase Partitioning Biotrickling Filters for Methane Abatement: Exploring the Potential of Hydrophobic Methanotrophs](#), *Journal of Environmental Management*, **151**: 124-131 (2015).
- [11] Keramati S., Ferdowsi M., Zamir S.M., [Compounds Interactions During Simultaneous Biodegradation of Hydrophobic N-Hexane and Hydrophilic Methanol Vapors in One- and Two-Liquid Phase Conditions](#), *Process Safety and Environmental Protection*, **147**: 283-291 (2021).

[۱۲] کرامتی، سینا؛ ضمیر، سید مرتضی، اثر فاز غیرآبی بر سینتیک تخریب زیستی همزمان بخار هگزان و متانول توسط باکتری‌های جداسازی‌شده از لجن فعال، فصلنامه علمی علوم محیطی نوین، (۲)۲۲: ۲۱۱ تا ۲۲۴ (۱۴۰۳).

[13] Domínguez A., Fernández A., González N., Iglesias E., Montenegro L., *Determination of Critical Micelle Concentration of Some Surfactants by Three Techniques*, *Journal of Chemical Education*, **74(10)**: 1227 (1997).

[14] Mulligan C.N., *Environmental Applications for Biosurfactants*, *Environmental Pollution*, **133(2)**: 183-198 (2005).

[15] Zhang T., Lu Q., Lü Y., Wu G., *Determination of Critical Micelle Concentration of Sodium Dodecyl Sulfate in Butyl Acrylate Emulsions*, *Polymer Bulletin*, **72(9)**: 2215-2225 (2015).

[16] Hernández M., Muñoz R. Daugulis A. J., *Biodegradation of VOC Mixtures of Different Hydrophobicities in Two-Phase Partitioning Bioreactors Containing Tailored Polymer Mixtures*, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* **86(1)**: 138-144 (2011).

[17] Lebrero R., Hernández M., Quijano G., Muñoz R., *Hexane Biodegradation in Two-Liquid Phase Biofilters Operated with Hydrophobic Biomass: Effect of the Organic Phase-Packing Media Ratio and the Irrigation Rate*, *Chemical Engineering Journal* **237**: 162-168 (2014).

[18] Karimi A., Golbabaei F., Neghab M., Pourmand M.R., Nikpey A., Mohammad K., Mehrnia M.R., *Biodegradation of High Concentrations of Benzene Vapors in a Two-Phase Partition Stirred-Tank Bioreactor*, *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*, **10** (2013).

[19] Scott M.J., Jones M. N., *The Biodegradation of Surfactants in the Environment*, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* **1508(1-2)**: 235-251(2000).

[20] González-Cortés J.J., Lamprea-Pineda P.A., Ramírez M., Van Langenhove H., Demeestere K., Walgraeve C., *Enhancing the Biodegradation of Hydrophobic Volatile Organic Compounds: A Study on Microbial Consortia Adaptation and the Role of Surfactants*, *Journal of Environmental Management*, **370** (2024).

[21] Li G., Zhang Z., Sun H., Chen J., An T., Li B., *Pollution Profiles, Health Risk of VOCs and Biohazards Emitted from Municipal Solid Waste Transfer Station and Elimination by an Integrated Biological-Photocatalytic Flow System: A Pilot-Scale Investigation*, *Journal of Hazardous Materials* **250**: 147-154 (2013).

[۲۲] هاشمی، سیده فاطمه؛ بررسی آزمایشگاهی حذف آلودگی‌های آب‌گریز از هوا در بیوراکتورستون حبابی حاوی یک حلال سنگین، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید باهنر کرمان (۱۳۸۸).

[23] Lamprea-Pineda P.A., Carmona F.J., Demeestere K., González-Cortés J.J., Van Langenhove H., Walgraeve C., Lebrero R., *Effect of Surfactant Type and Concentration on Gas-Liquid Mass Transfer in Biotrickling Filters used for Air Pollution Control*, *Journal of Environmental Management*, **367** (2024).

[24] Cheng Y., He H., Yang C., Yan Z., Zeng G., Qian H., *Effects of Anionic Surfactant on N-Hexane Removal in Biofilters*, *Chemosphere*, **150**: 248-253 (2016).

- [25] Noveiri H., Nozari M., Almasi H., Jaafarzadeh Haghighi Fard N., Jorfi S., Takdastan A., Abbasi Montazeri E., [Biodegradation of N-Hexadecane using Bacterial Consortium Isolated from Seawater Contaminated with Petroleum](#), *Biomass Conversion and Biorefinery*, **14**: 19451–19460 (2024).
- [26] Badmus S.O., Amusa H.K., Oyeohan T.A., Saleh T.A., [Environmental Risks and Toxicity of Surfactants: Overview of Analysis, Assessment, and Remediation Techniques](#), *Environmental Science and Pollution Research*, **28(44)**: 62085–62104 (2021).
- [27] Furmanczyk E.M., Kaminski M.A., Spolnik G., Sojka M., Danikiewicz W., Dziembowski A., [Isolation and Characterization of *Pseudomonas* spp. Strains that Efficiently Decompose Sodium Dodecyl Sulfate](#), *Frontiers in Microbiology*, **8** (2017).
- [28] Palladino P., Ragone R., [Ionic Strength Effects on the Critical Micellar Concentration of Ionic and Nonionic Surfactants: The Binding Model](#), *Langmuir*, **27(23)**: 14065-14070 (2011).
- [29] Singh A., Van Hamme J. D., Ward O. P., [Surfactants in Microbiology and Biotechnology: Part 2. Application Aspects](#), *Biotechnology advances*, **25(1)**: 99-121 (2007).
- [30] Li K., Yang B., Wang L., [Performance Evaluation of a Biotrickling Filter for the Removal of Gasphase 1,2-Dichlorobenzene: Influence of Rhamnolipid and Ferricions](#), *Chemosphere*, **250** (2020).
- [31] Zhang Q., Wang H. Q., Jiang R. H., Xiao Y, Q., Wu X. X., [Differential Proteomic Analysis of Fluoranthene-Degrading Bacteria under Co-Metabolic Conditions](#), *China Environmental Science*, **42**: 4423-4432 (2022).
- [32] Safari M., Ghahroodian S., Abyarazimi M., Rahmaniyan S., Heydaryan F., Rezaei M., Yakhchali B., [Comprehensive Genomic Analysis of a Novel *Bacillus Cereus* Decomposing Toluene Potentially Applicable in Bioremediation](#), *Microbiology Spectrum*, (2025).
- [33] Hussain N., Muccee F., Hammad M., Mohiuddin F., Bunny S.M., Shahab A., [Molecular and Metabolic Characterization of Petroleum Hydrocarbons Degrading *Bacillus Cereus*](#), *Polish Journal of Microbiology*, **73(1)**:107-120 (2024).
- [34] Zhang Y., Gao J., Li Q., Yang J., Gao Y., Xue J., Li L., Ji Y., [Biosurfactant Production by *Bacillus Cereus* GX7 Utilizing Organic Waste and its Application in the Remediation of Hydrocarbon-Contaminated Environments](#), *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **40(11)** (2024).
- [35] Durval I.J.B., Mendonça A.H.R., Rocha I.V., Luna J.M., Rufino R.D., Converti A., Sarubbo L.A., [Production, Characterization, Evaluation and Toxicity Assessment of a *Bacillus Cereus* UCP 1615 Biosurfactant for Marine Oil Spills Bioremediation](#), *Marine Pollution Bulletin*, **157** (2020).