

## حذف نیترات از آب‌های زیرزمینی به صورت درجا با استفاده از منابع کربنی مایع

فریده انصاری سامانی<sup>۱\*</sup>، سید حسن طباطبائی<sup>۲</sup>، فریبرز عباسی<sup>۳</sup> و ابراهیم علایی<sup>۴</sup>

### چکیده

نیترات در طبیعت به واسطه فعالیت‌های میکروبی می‌تواند به نیتروژن یا دیگر شکل‌ها تغییر یابد و حذف شود. روش‌های مختلفی برای حذف نیترات از آب‌ها وجود دارند که رایج‌ترین آنها، استفاده از بسترهای نیترات‌زدایی است. در این پژوهش با طراحی بسترهای نیترات‌زدایی حاوی مخلوطی از خاک و چهار منبع کربنی مایع، شامل گلوکز، استات، اتانول و متانول عملکرد آنها برای حذف نیترات آب زیرزمینی بررسی شد. به همین منظور، از یک ستون پلکسی‌گلاس به‌عنوان ستون ماریوت (منبع آب) و یک ستون پلکسی‌گلاس دیگر به‌عنوان محیط متخلخل پر شده با خاک با بافت لوم رسی به طول ۵۰ و قطر ۱۰ سانتی‌متر استفاده شد. نمک نیترات پتاسیم برای ساختن غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیترات استفاده شد. این پژوهش در دو نسبت C/N ۱/۵ و ۳/۵ انجام شد و اندازه‌گیری غلظت نیترات خروجی تا حجم منفذی ۱۰ ادامه داشت. نتایج نشان داد با گذشت زمان، میزان غلظت نیترات خروجی کاهش می‌یابد؛ به طوری که با گذشت ۲۵۰ ساعت از شروع آزمایش مقدار غلظت خروجی به مقدار ثابتی رسید. راندمان حذف در گلوکز ۹۷/۸۳، استات ۹۷، اتانول ۹۸/۶۶ و متانول ۹۹ درصد به‌دست آمد؛ بنابراین، متانول بیشترین کارایی را در حذف نیترات داشته و توانسته است نیترات به غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر را به ۱/۲ میلی‌گرم بر لیتر برساند. متانول با تعداد ۱۳۱۰۰۰ باکتری، بیشترین میزان رشد باکتری را در نسبت C/N ۳/۵ داشت. در واقع، با افزایش غلظت ماده کربنی، میزان رشد باکتری‌ها افزایش و میزان غلظت نیترات کاهش یافت. در نتایج حاصل از آزمون همبستگی، تفاوت میانگین‌های دو جامعه از سطح اطمینان ۵ درصد کوچک‌تر است که اختلاف معنی‌داری بین غلظت منابع کربنی وجود داشت.

**واژه‌های کلیدی:** آلودگی، باکتری، حذف بیولوژیکی، راندمان، نرخ حذف.

**ارجاع:** انصاری سامانی ف. طباطبائی س. ح. عباسی ف. و علایی ا. ۱۳۹۸. حذف نیترات از آب‌های زیرزمینی به صورت درجا با استفاده از منابع کربنی مایع. مجله پژوهش آب ایران. ۳۴: ۱۴۷-۱۵۹.

۱- دانشجوی دکتری مهندسی آبیاری و زهکشی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد.

۲- دانشیار گروه مهندسی آبیاری و زهکشی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد.

۳- استاد مؤسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج.

۴- دانشیار محیط‌زیست و بیوتکنولوژی، پژوهشگاه صنعت نفت.

\* نویسنده مسئول: [faride.ansari@yahoo.com](mailto:faride.ansari@yahoo.com)

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۱۲

## مقدمه

محیط متخلخل، یک محیط منفذدار است که جریان سیال از درون این منفذها عبور می‌کند. زهکشی‌ها، آب‌های زیرزمینی و آبخوان‌ها، مثال‌های عملی از جریان در محیط متخلخل هستند. اغلب آبخوان‌ها از شن، ماسه متراکم یا غیرمتراکم تشکیل شده‌اند. برخی از آنها در منطقه محدودی واقع شده‌اند و برخی دیگر منطقه وسیعی را شامل می‌شوند. ضخامت آنها از چندین متر تا چند صد متر متغیر است.

غلظت بالای نیترات از مهم‌ترین آلودگی‌هایی است که کیفیت آب را تهدید می‌کند و آثار مخربی بر سلامت افراد به‌ویژه کودکان دارد (صادق و همکاران، ۲۰۰۸). آلودگی نیترات زمانی رخ می‌دهد که این ترکیب بیشتر از مقدار جذب‌شده توسط گیاهان در خاک وجود داشته باشد. این مازاد نیترات می‌تواند به‌راحتی به‌وسیله آبیاری، بارش باران یا ذوب‌شدن برف و یخ از خاک‌ها و صخره‌ها عبور کرده و در نهایت به آب‌های زیرزمینی برسد. منابع دیگر آلودگی نیترات در آب‌های زیرزمینی، شامل پساب‌ها، فاضلاب‌ها، فضولات حیوانی و حوض‌های سرپوشیده هستند (ماهوی و همکاران، ۲۰۰۵). سطح مجاز نیترات در آب ۴۵ میلی‌گرم بر لیتر بر حسب نیترات است (گرافمن و همکاران، ۲۰۰۶؛ ژو و همکاران، ۲۰۰۶؛ آژانس محیط‌زیست اروپا، ۲۰۱۲). از آنجایی که یکی از مهم‌ترین معایب سیستم‌های زهکشی آیشویی آفت‌کش‌ها و مواد مغذی خاک و انتقال آنها به آب‌های سطحی است، این مواد باعث آلوده‌شدن آب‌های سطحی و همچنین ایجاد مشکلات زیست‌محیطی می‌شوند. از جمله مهم‌ترین آلودگی‌هایی که در اثر توسعه کشاورزی به وجود می‌آید، آلودگی ناشی از کودهای ازته از جمله نیترات است. مطالعات انجام‌شده در آمریکا نشان داد که آیشویی نیترات به کار برده شده در مزارع کشاورزی دارای سیستم‌های زهکشی زیرزمینی، یکی از مهم‌ترین عوامل افزایش نیترات در آب‌های سطحی است (جکسون و والر، ۱۹۹۷).

زیست سالم‌سازی<sup>۱</sup>، شاخه جدیدی از تکنولوژی است که برای کاهش غلظت آلاینده‌ها در آب‌های زیرزمینی و خاک استفاده می‌شود. فرایندهای زیست سالم‌سازی خاک می‌توانند درجا<sup>۲</sup> و غیر درجا<sup>۳</sup> انجام شوند. در روش‌های

درجا، فرایند زیست سالم‌سازی در محل آلودگی انجام می‌شود؛ در حالیکه در روش‌های غیر درجا ابتدا خاک آلوده به مکان دیگری منتقل و سپس فرایند زیست سالم‌سازی آن انجام می‌شود. هر یک از این روش‌ها، مزایا و معایب خاص خود را دارند (کولینا و همکاران، ۲۰۰۵). روش‌های متفاوتی برای حذف نیترات از آب آشامیدنی وجود دارند؛ از جمله آنها، روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی که برخی از آنها در مقیاس بزرگ عملیاتی نیستند. متداول‌ترین روش‌های موجود برای کاهش نیترات در مقیاس بزرگ، عبارت‌اند از: رقیق‌سازی<sup>۴</sup>، تبادل یون<sup>۵</sup>، اسمز معکوس<sup>۶</sup>، روش بیولوژیکی<sup>۷</sup>، روش الکتروشیمیایی<sup>۸</sup> و روش جذب سطحی<sup>۹</sup> (ناصرخاکی، ۱۳۹۵).

در سال‌های اخیر، فرایند حذف بیولوژیکی نیترات از نظر اقتصادی، قابلیت کاربرد و راندمان، مناسب‌ترین روش است. به‌علاوه، این روش یکی از مناسب‌ترین روش‌ها برای حذف آلودگی نیترات در محیط‌های اشباع است (هاشمی و همکاران، ۱۳۹۰). روش بیولوژیکی حذف نیترات، یک جانشین اقتصادی مناسب برای تصفیه فیزیکی و شیمیایی است. این روش از یک باکتری برای نیترات‌زدایی در غیاب اکسیژن هوا استفاده می‌کند. این باکتری‌ها از نوع هتروتروفیک هستند که نیاز به یک منبع انرژی دارند. این منبع انرژی به‌صورت کربن آلی، دی‌اکسیدکربن و یا سولفور است (سوارس، ۲۰۰۲). این باکتری‌های نیترات‌زدا، گونه‌ای از باکتری‌ها هستند که از نیترات یا نیتريت به‌عنوان عامل پذیرنده الکترون برای اکسیداسیون ترکیبات آلی در نبود اکسیژن استفاده کرده و گازهای نیتروژن را تولید می‌کنند (دلاروکا و همکاران، ۲۰۰۷). این روش نیترات‌زدایی در محیط‌هایی که میزان اکسیژن در آن‌ها کم است، مناسب است. باکتری‌های نیترات‌زدا بین ۰/۱ تا ۵ درصد از کل جمعیت باکتری‌های خاک را تشکیل می‌دهند (شاپلیگ، ۲۰۰۶). تبدیل نیتروژن یا جذب باکتریایی آن، یکی از راه‌های مهمی است که برای کاهش غلظت نیترات یا آمونیوم محلول در آب استفاده می‌شود. میکروارگانیزم‌های دینیتریفیکاتور، نیترات را به‌عنوان گیرنده الکترون برای تنفس مورد استفاده قرار

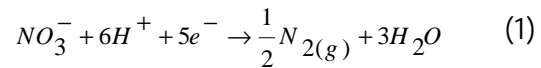
4- Dilution  
5- Ion Exchange  
6- Reverse Osmosis  
7- Biological Method  
8- Electrochemical Method  
9- Adsorption Method

1- Bioremediation  
2- In Situ  
3- Ex Situ

مطالعه برای حذف نیترات در دمای ۵ تا ۷۰ درجه سلسیوس به ترتیب ۳۲/۸ و ۲۲/۲ میلی گرم بر گرم گزارش شد و افزایش دما به بیش از ۷۰ درجه سلسیوس باعث کاهش جذب نیترات شد. هیو و همکاران (۲۰۱۵) برای جذب نیترات با استفاده از گرانول چیتوسان پوشش شده با آهن تحقیقی انجام دادند. نتایج بررسی خصوصیات جذب نشان داد که سطح ویژه و متوسط اندازه منافذ آن به ترتیب ۸/۹۸ مترمربع بر گرم و ۵۶/۹۴ آنگستروم است. نقطه بار صفر جذب در اسیدیته برابر پنج به دست آمد. نتایج نشان داد حداکثر ظرفیت جذب جذب برای حذف نیترات ۸/۳۵ میلی گرم بر گرم بود و تغییر اسیدیته از ۳ به ۱۰ تأثیر عمده‌ای روی حذف نیترات نداشت.

جانی و همکاران (۲۰۱۴) با استفاده از اتانول (حذف بیولوژیکی) به حذف درجا نیترات در آب‌های اسیدی و آلوده آبخوانی در کاتولینا پرداختند. اتانول، به‌عنوان منبع کربن برای افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌های نیتروژن‌زدا به آبخوان اضافه شد. مهم‌ترین فاکتور تأثیرگذار در این روش عامل pH بود. کاهش ۹۵ درصد غلظت نیترات در آب‌های زیرزمینی با اضافه کردن اتانول مشاهده شد. آنها در پژوهش خود به این نتیجه رسیدند که حذف نیترات از آب‌های زیرزمینی اسیدی و آلوده با درجه حرارت پایین با تزریق اتانول به طور موفقیت‌آمیزی انجام شد. اثر نیتروژن‌زدایی درجا با pH پایین، کم بود و نیاز به بهینه‌سازی مقدار pH حدود ۶ داشت. تزریق اتانول به آب‌های زیرزمینی از طریق گالری‌های نفوذ در مناطق غیراشباع انجام گرفت. این روش مقرون‌به‌صرفه بود و اجازه نفوذ و گسترش کربن مایع را به مناطق بزرگ‌تری می‌داد. سیرینادان و همکاران (۲۰۱۶) اثر منابع کربنی مختلف را بر جداسازی نیترات از آب در مقیاس آزمایشگاهی و در یک راکتور بیوفیلم مورد بررسی قرار دادند. منابع کربنی این پژوهش استات، گلوکز، متانول و اتانول بود. منابع کربنی ذکر شده به نسبت ۲/۵ کربن به نیترات به‌عنوان محلول آلاینده و در pH برابر ۷ استفاده شد. راکتور به‌صورت پیوسته و با یک حرکت هیدرولیکی مشخص به مدت ۸/۳ ساعت شروع به کار کرد (مثل تکان دادن یک شیشه آب به‌صورت ملایم و پیوسته)؛ سپس به صفحه بیوفیلم (بیوفیلم‌ها لایه‌های نسبتاً نازکی - تا ضخامت چند صد میکرون - از میکروارگانیسم‌ها هستند که به سطوح چسبیده و رشد می‌کنند) اجازه داده شد که

می‌دهند. حذف نیترات توسط واکنش نیمه‌عمر زیر صورت می‌گیرد (فارنر، ۲۰۰۲):



علاوه بر این، به‌دلیل اینکه واکنش نیتروژن‌زایی توسط باکتری زنده انجام می‌شود، بنابراین سرعت واکنش به پارامترهایی مانند دما و pH بستگی دارد. در دماهای زیر ۱۰ درجه سلسیوس واکنش متوقف می‌شود و این کاهش دما به‌عنوان ممانعت‌کننده عمل می‌کند. با افزایش دما از ۱۰ درجه سلسیوس به ۳۲ درجه سلسیوس سرعت واکنش افزایش می‌یابد. pH بهینه برای واکنش نیتروژن‌زدایی بین ۶/۶ تا ۸ است. سرعت واکنش در pH کمتر از ۶ کاهش می‌یابد و در PH کمتر از ۴/۵ متوقف می‌شود. از جمله روش‌های بیولوژیکی، کاربرد روش‌هایی است که در محیط‌های آبی که منجر به فعال شدن باکتری‌های Nitrate ammonifying می‌شود که این روش با رشد باکتری میزان نیتروژن‌زدایی آن، بیشتر از سایر روش‌هاست؛ اما در این روش، مجموعه‌ای محدودکننده وجود دارد که ضرورت انتخاب منابع کربنی مختلف، برای تسریع میزان رشد باکتریایی برای حذف آلاینده است (شاپلیگ، ۲۰۰۶).

نسبت کربن به ازت کل (C/N) مورد نیاز برای تکمیل فرایند نیترات‌زدایی و تولید گاز نیتروژن با توجه به طبیعت منبع کربنی و گونه باکتری‌ها متفاوت است (پینی، ۱۹۷۳). برای بیشتر منابع کربنی قابل دسترس نسبت وزنی C/N بین ۳ تا ۶ قادر به تکمیل فرایند نیترات‌زدایی و تولید نیتروژن است (اسکریند و همکاران، ۱۹۸۲). طبیعت منبع کربنی و دسترس‌پذیری‌اش در نسبت C/N تعریف می‌شود. ولوکیتا و همکاران (۱۹۹۶) و وانگ و لیبینگ (۲۰۱۶)، در تحقیقات خود محدوده وسیعی از انواع بسترهای کربنی را برای یافتن مناسب‌ترین بستر برای بیوراکتور مورد آزمایش قرار داده‌اند.

در مطالعات پیشین، مواد مختلفی از جمله مایع و گاز، از قبیل اتانول، متانول و مواد جامد مانند روزنامه، پوشال گندم، پنبه، شکر و نیشکر، پلی‌استرهای مصنوعی و مواد آلی طبیعی مثل پوشال‌ها، پوسته درختان مختلف و انواع چوب‌ها استفاده شده است. کرانن و همکاران (۲۰۱۵) برای حذف نیترات با استفاده از خاک اره اصلاح‌شده درخت کاج تحقیقی انجام دادند. ظرفیت جذب مورد

بسیار زمان‌بر و از لحاظ اقتصادی مقرون‌به‌صرفه نبوده‌اند؛ اما در این پژوهش، از خود محیط متخلخل برای رشد باکتری‌ها برای حذف درجای نیترات استفاده خواهد شد و این حذف با کاتالیزورهایی تشدید شد. در این پژوهش از منابع کربنی مایع گلوکز، استات، متانول و اتانول برای تأمین منبع کربنی مورد نیاز متابولیسم باکتری‌های هتروتروفیک، استفاده شد.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت پایلوت و در شرایط متعارف آزمایشگاه (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و فرض شرایط هم‌دمای) و در pH=7 انجام شد. در این پژوهش، از یک ستون آزمایشگاهی برای شبیه‌سازی بستر خاک و آب و یک ستون ماریوت برای برقراری جریان اشباع و یکنواخت استفاده شد. خاک مورد نیاز در طراحی بستر از مزرعه‌ای واقع در دانشگاه شهرکرد از عمق صفر تا ۴۵ سانتی‌متر تهیه شد. خاک‌های جمع‌آوری‌شده ابتدا به مدت دو روز هوا خشک و سپس از الک دو میلی‌متری عبور داده شدند. بافت خاک به روش هیدرومتری و جرم مخصوص به روش استوانه مشخص شد. برخی از مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک و آب استفاده شده در جدول ۱ و ۲ ارائه شده است.

به مدت یک‌ماه برای هر منبع کربنی مشخص توسعه پیدا کند؛ سپس، بعد از گذشت یک ماه از راکتور نمونه‌برداری شده و میزان نیترات، نیتريت و آمونیوم آن اندازه‌گیری شد. متانول معمولاً بهترین منبع کربنی برای نیتروژن‌زدایی از آب‌های آلوده به نیترات است و تنها محدودیت آن وفق پیدا کردن آن در محیط با باکتری‌های موجود در آب‌های آلوده است. با بررسی میزان تبدیل نیترات به ازت یا آمونیوم مشاهده شد که گلوکز به‌عنوان منبع کربنی مناسب است. باکتری *Pseudomonas.sp*، از مواد کربنی استات و اتانول تغذیه می‌کند؛ در حالیکه باکتری *Enterobacter.sp* و *Methylobacillus* از صفحات بیوفیلم گلوکز و متانول تغذیه می‌کنند.

ساده‌ترین راه کاهش نیترات آب زیرزمینی، استخراج زهاب‌ها یا آب‌های زیرزمینی و سپس تصفیه آنها و برگردان به محیط متخلخل است که مشکلات خاص خود را دارد. بنابراین، یافتن راه‌حلی که بتوان با استفاده از آن به‌صورت درجا نیترات آب در محیط متخلخل اعم از اراضی زهدار یا آب‌های زیرزمینی را کاهش داد، ضروری است. به استناد تحقیق‌هایی که تاکنون انجام شده است، انتخاب یک منبع کربنی اقتصادی با راندمان و نرخ حذف مناسب، ضروری گزارش شده است (وانگ و لیپینگ، ۲۰۱۶). اکثر پژوهش‌های قبلی در مقیاس‌های بزرگ و با استفاده از صفحات بیوفیلم و PRBها انجام شده‌اند که

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در ستون

بافت خاک	رس %	شن %	سیلت %	n %	$P_b$ (gr/cm <sup>3</sup> )	pH	EC (dS/m)	NO <sub>3</sub> (mg/kg)	SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> (mg/kg)	Br (mg/kg)	درصد کربن آلی
لوم رسی	۲۸	۲۴	۴۸	۴۹	۱/۳۸	۷/۳	۰/۳۳	۴/۰۴	۰/۰۵	۰/۰	۰/۲۸

جدول ۲- مشخصات شیمیایی آب مورد استفاده

pH	EC (dS/m)	NO <sub>3</sub> (mg/lit)	SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> (mg/lit)	Br (mg/lit)	NO <sup>-</sup> (mg/lit)	NH <sub>3</sub> (mg/lit)
۷/۶	۰/۳۲	۲۴	۲۷/۹۵	۴۶	۰/۰۵	۰/۰۳

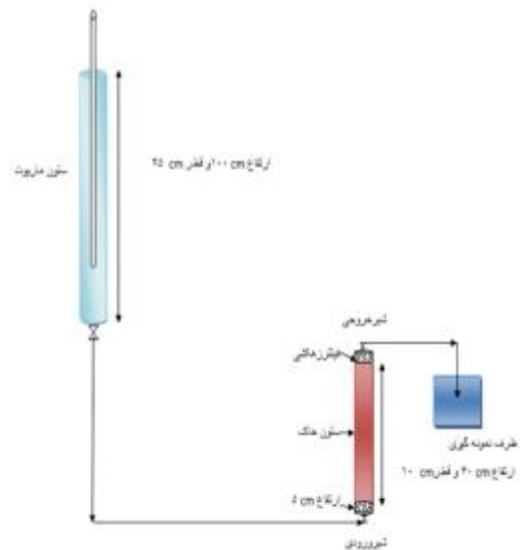
سانتی‌متر در این ستون شبیه‌سازی شد. از ستون دیگری به شکل ستون ماریوت برای تأمین و نگهداشت آب استفاده شد. یک عدد شیر قطع و وصل بر روی خروجی و ورودی ستون نصب شد (شکل ۱).

برای پر کردن بستر، ابتدا یک سر ستون با درپوش از جنس پلگسی‌گلاس مسدود شد و یک سوراخ نیز برای نصب لوله مربوط به جریان ورودی روی آن ایجاد شد. کل ارتفاع

تهیه ستون‌های آزمایشی و آماده‌سازی مدل فیزیکی برای تهیه مدل فیزیکی، ابتدا ستون‌های آزمایش طراحی شدند. ستون‌های آزمایش از جنس پلگسی‌گلاس به ضخامت ۲ میلی‌متر انتخاب شدند. ستون‌های پلگسی‌گلاس در دو طول ۱۰۰ و ۵۰ سانتی‌متر، به قطر ۲۵ و ۱۰ سانتی‌متر در کارگاه تحقیقاتی پژوهشگاه نفت تهران ساخته شدند؛ به طوری که بستر به طول ۴۰

نیترازدایی حضور نیترات در محیط است (هیل و کارداسی، ۲۰۰۴؛ گرینان و همکاران، ۲۰۰۶). آزمایش‌ها در ۱۴ گام انجام شدند. در گام اول، آب با غلظت نیترات ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به ستون خاک استریل‌شده به‌عنوان شاهد تا آستانه اشباع‌شدن تزریق شد. استریل‌کردن، فرایندی است که میکروارگانیسم‌ها و عوامل انتقال‌دهنده آن‌ها، از جمله قارچ، باکتری، هاگ باکتری و ویروس را از سطح اجسام از بین می‌برد. فرایند استریل‌کردن بسته به جنس تجهیزات، نیازمند استریلیزاسیون شامل روش‌های گرمایی خشک (فوور) گرمایی مرطوب (اتوکلاو) شیمیایی، رادیواکتیو (پرتوگاما) و فیلتراسیون می‌شوند. در این پژوهش با دستگاه اتوکلاو، استریل‌کردن انجام شد. برای ایجاد این مقدار آلودگی نیاز به ۰/۷ گرم نیترات پتاسیم در یک لیتر آب مقطر استریل شده است. در گام دوم، منبع آب (آب با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) به ستون که حاوی خاک طبیعی منطقه است، تزریق شد و در گام‌های سه تا دوازده، تعداد ۱۲ بستر با منابع کربنی استات ( $C_2H_3O_2$ )، گلوکز ( $C_6H_{12}O_6$ )، اتانول ( $C_2H_5OH$ ) و متانول ( $CH_4O$ ) به دو نسبت کربن به نیتروژن ۱/۵ (جانی و همکاران، ۲۰۱۴)، ۳/۵ (سیرینادان و همکاران، ۲۰۱۶) به‌عنوان بسترهای نیترازدایی استفاده شد. در هر یک از گام‌ها، در ابتدا و انتهای آزمایش برای شناسایی و رشد باکتری‌ها و همچنین میزان تأثیر آنها بر راندمان حذف نیترات مقدار آنها شمارش شد. منابع کربنی به منبع آب آلوده به نیترات اضافه و به ستون تزریق شد. مدت زمان پیشنهادی برای اندازه‌گیری نمونه‌ها تا زمانی ادامه یافت که اعداد غلظت خروجی به مقدار ثابتی رسید و پیش‌بینی می‌شد این مدت زمان برای هر منبع کربنی حداکثر یک‌ماه خواهد بود (سیرینادان و همکاران، ۲۰۱۶). شکل ۲، منحنی رخنه نمادین را برای فرایند جذب در یک ستون جاذب نشان می‌دهد که توسط پائولچن و همکاران (۲۰۰۳) ارائه شده است. زمان وقوع نقطه رخنه و شکل منحنی رخنه، مهم‌ترین مشخصات منحنی رخنه در تعیین عملکرد هستند (آکسو و گونن، ۲۰۰۴). نقطه رخنه، زمانی فرامی‌رسد که غلظت یون نیترات در جریان خروجی به ۳ تا ۵ درصد غلظت آن در جریان ورودی برسد. نقطه اشباع نیز زمانی فرا می‌رسد که غلظت یون در جریان خروجی به مقدار ثابتی برسد؛ هر چند که بستر ستون به طور کامل اشباع نشده باشد. بنابراین، نقطه اشباع در فرایند جذب

ستون آزمایش توسط ترکیب خاک به‌صورت لایه لایه و به ضخامت پنج سانتی‌متر پر شد. پنج سانتی‌متر ابتدا و انتهای ستون با سنگ‌ریزه و شن‌ریز برای یکنواخت‌کردن ورود جریان و جلوگیری از شستشوی محتویات داخل آن پر شد (هلی و همکاران، ۲۰۱۲).



شکل ۱- شماتیک مدل فیزیکی مورد استفاده

بعد از پرکردن تمامی ستون، انتهای آنها با درپوش پلگسی گلاس مسدود شد. یک سوراخ نیز برای نمونه‌گیری روی درپوش ایجاد شد. ستون‌های آماده‌شده روی چهار پایه‌های فلزی چیده شدند. انجام آزمایش مستلزم وقوع جریان اشباع است. به همین منظور برای اطمینان از پر بودن کلیه منافذ موجود در بستر و تخلیه کامل هوا از آنها، جریان ورودی به بستر رو به بالا در نظر گرفته شد (هلی و همکاران، ۲۰۱۲). شبیه‌سازی جریان ورودی به ستون بدین‌صورت انجام شد که ابتدا با استفاده از ستون ماریوت به حجم ۴۹ لیتر، انتقال جریان به کف ستون با تعبیه یک شیر بر روی محلول ورودی به ستون مهیا شد.

### نمونه‌برداری از جریان پیوسته ورودی به بستر و خروجی از آنها

غلظت نیترات ورودی به بستر در مرحله اول آزمایش‌ها، معادل ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در نظر گرفته شد (از نمک نیترات پتاسیم  $KNO_3$  برای ایجاد آلودگی استفاده شد). در این مرحله، هدف فقط موجودیت نیترات در محلول ورودی بود. گزارش شده است که لازمه وقوع پدیده

ساعت) با استفاده از معادله پیشنهادی توسط لین و همکاران (۲۰۰۸) محاسبه شد:

$$q = Q / A \quad (۵)$$

به طوری که  $Q$  و  $A$ ، به ترتیب شدت جریان حجمی خروجی (مترمکعب بر ساعت) و مقطع عبور جریان (مترمربع) هستند.

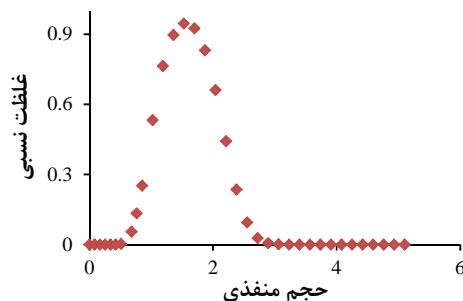
با توجه به اینکه سرعت آب در جریان آب‌های زیرزمینی بین ۰/۱ تا ۰/۵ متر بر روز است (آل‌تبا و همکاران، ۲۰۰۰)، در این پژوهش نیز سعی بر این شد که برای ایجاد جریان یکنواخت در ستون، سرعت در حدود ۰/۳۴ متر بر روز باشد. بین این دو پارامتر حجم منفذی ( $p_v$ ) و زمان ( $t$ ) معادله خطی به‌صورت  $t = 1.17p_v$  برقرار است و تا مقدار حجم منفذی ۱۰ (مدت زمان آزمایش‌ها برای هر تیمار طبق تحقیقات قبلی (سیرینادان و همکاران، ۲۰۱۶) یک ماه در نظر گرفته شد که این مدت زمان تا حجم منفذی ۱۰ ادامه داشت) آزمایش ادامه پیدا کرد.

### نتایج و بحث

#### تأثیر اضافه‌کردن منبع کربنی بر غلظت خروجی

در شکل‌های ۳ و ۴، تغییرات نیترات خروجی و ورودی در طول دوره آزمایش، در هر ۱۴ نوع بستر نمایش داده شده است. غلظت نیترات خروجی از همان زمان شروع آزمایش مشاهده و اندازه‌گیری شد. میزان غلظت نیترات خروجی در هر ۱۳ بستر خاک غیراستریل به کمتر از مقدار نیترات ورودی کاهش یافته است که به دلیل وجود باکتری‌های حذف/تثبیت‌کننده نیترات است و نیترات خروجی در بسترهای حاوی منابع کربنی در کل دوره آزمایش کمتر از ۴۶ میلی‌گرم بر لیتر است؛ در حالی که در بستر فاقد منبع کربنی (شاهد)، غلظت نیترات خروجی بعد از گذشت چند روز از شروع آزمایش به بیش از ۴۶ میلی‌گرم بر لیتر رسیده است. این نتایج مشابه نتایج گزارش شده توسط دادخواه و همکاران (۲۰۱۸)، ربیعی و همکاران (۲۰۱۷)، هلی و همکاران (۲۰۱۲)، کامرون و همکاران (۲۰۱۲) و هاشمی و همکاران (۱۳۹۰) است.

نیترات از آب در ستون جاذب را می‌توان نقطه‌ای قلمداد کرد که در آن غلظت نیترات در خروجی با غلظت آن در ورودی برابر باشد و یا غلظت نیترات در خروجی به حداکثر مجاز غلظت در آب آشامیدنی برسد (پائول چن و همکاران، ۲۰۰۳).



شکل ۲- نمونه‌ای از منحنی رخنه

#### راندمان حذف نیترات و نرخ حذف نیترات

راندمان حذف نیترات از معادله زیر (ژو و همکاران، ۲۰۱۵) محاسبه شد:

$$R \% = (C_i - C_{ef}) / C_i * 100 \quad (۲)$$

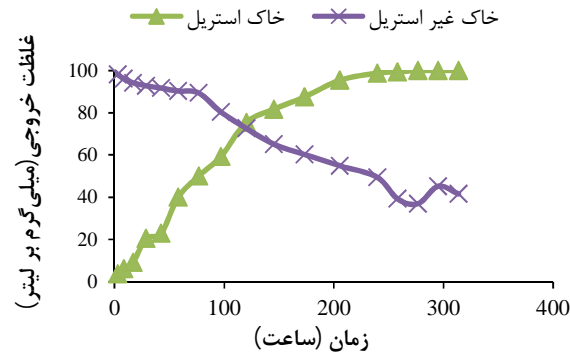
در این معادله  $C_i$  و  $C_{ef}$ ، به ترتیب غلظت نیترات ورودی و خروجی بر حسب میلی‌گرم در لیتر هستند. برای تعیین عملکرد بسترهای نیترات‌زدایی، نرخ حذف نیترات (میلی‌گرم نیترات حذف‌شده در لیتر در ساعت) از معادله زیر محاسبه شد (قانع و همکاران، ۲۰۱۵):

$$R_{No.3-} = -\Delta C / HRT \quad (۳)$$

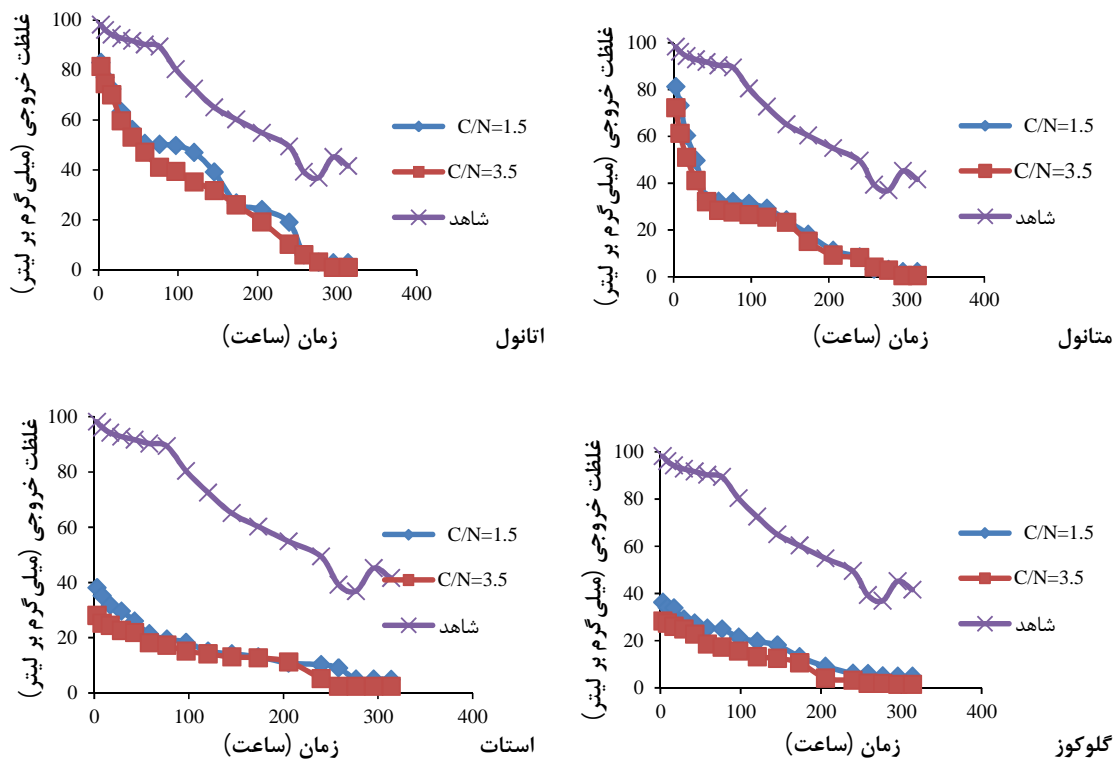
به طوری که  $-\Delta C$ ، مقدار افت غلظت نیترات ورودی (میلی‌گرم بر لیتر)؛ و  $HRT$ ، زمان نگهداشت هیدرولیکی (Actual hydraulic retention time) (ساعت) است. زمان نگهداشت هیدرولیکی از معادله ارائه‌شده توسط قانع و همکاران (۲۰۱۵) محاسبه شد:

$$HRT = (L - n_e) / q \quad (۴)$$

در این معادله:  $L$ ،  $n_e$  و  $q$  به ترتیب طول ستون (متر)، تخلخل مؤثر (بدون بعد) و نرخ بارگذاری هیدرولیکی (متر بر ساعت) هستند. نرخ بارگذاری هیدرولیکی (متر در



شکل ۳- تغییرات غلظت نیترات خروجی در طول دوره آزمایش با بستر استریل و غیراستریل (فاقد منبع کربنی)



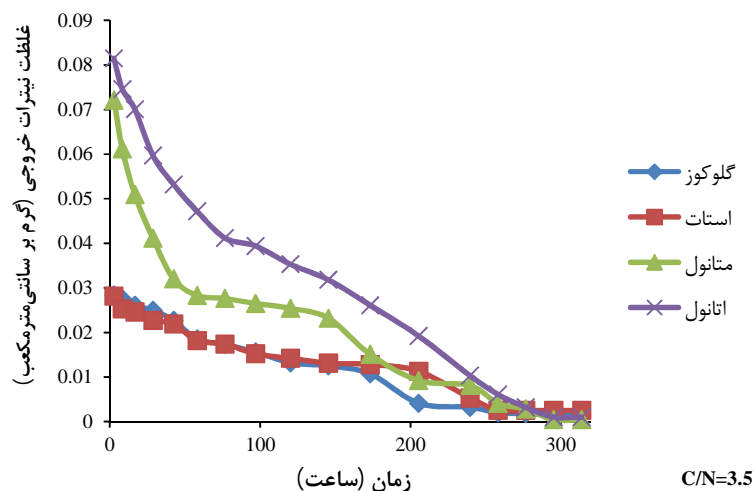
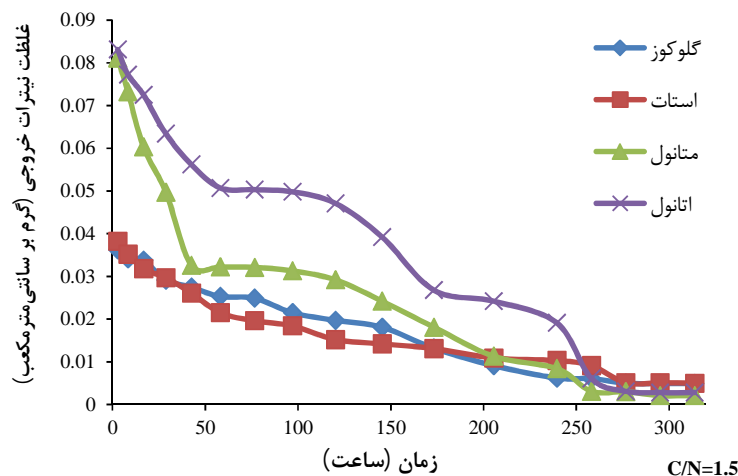
شکل ۴- تغییرات غلظت نیترات خروجی در طول دوره آزمایش

موجود در خاک شود؛ از این رو، با افزایش میزان نسبت کربن به نیتروژن برای هر چهار ماده کربنی، میزان جداسازی نیتروژن افزایش می‌یابد که علت این پدیده قبلاً ذکر شد. بعد از گذشت حدود ۲۵۰ ساعت از شروع فرایند حذف بیولوژیک مشاهده شد که غلظت نیترات خروجی تقریباً ثابت شده و تغییر چندانی ندارد. این پدیده ممکن است به علت رشد باکتری‌ها به دلیل مساعد بودن شرایط رشد در ابتدای آزمایش و جداسازی بهینه میزان نیترات در یک فرایند ۲۵۰ ساعته و در نهایت فقدان یکی از

**بررسی اثر منابع کربنی در نسبت‌های مختلف C/N**  
همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، میزان جداسازی نیترات توسط باکتری‌های موجود در خاک با دو غلظت اولیه که C/N آنها به ترتیب ۱/۵ و ۳/۵ است، رسم شده است. برای چهار منبع کربنی مایع مختلف مشاهده می‌شود که میزان جداسازی نیتروژن توسط میکروارگانیسم‌ها برای هر چهار منبع کربنی با افزایش میزان C/N، افزایش می‌یابد. با توجه به اینکه منبع کربنی می‌تواند منجر به رشد و توسعه باکتری‌های هتروتروفیک

نتیجه گرفت که از میان چهار منبع کربنی گلوکز، استات، اتانول و متانول، برای نسبت غلظت  $C/N$  ۱/۵ و ۳/۵، متانول مناسب‌ترین منبع کربنی بوده است و بیشترین میزان جداسازی نیترات در آن صورت گرفته است.

عوامل مؤثر بر رشد به دلیل رشد حداکثری باکتری‌ها باشد. شایان ذکر است که در پایان آزمایش‌ها و پس از ثابت شدن غلظت نیترات خروجی از ستون، جلبک‌های سبز در بخش‌هایی از ستون جذب به علت رشد باکتری و توده‌ای شدن آنها مشاهده شدند. با مشاهده شکل ۵، می‌توان



شکل ۵- تغییرات غلظت نیترات خروجی در طول دوره آزمایش با چهار منبع کربنی در دو نسبت  $C/N=1.5$  و  $C/N=3.5$

### راندمان حذف نیترات

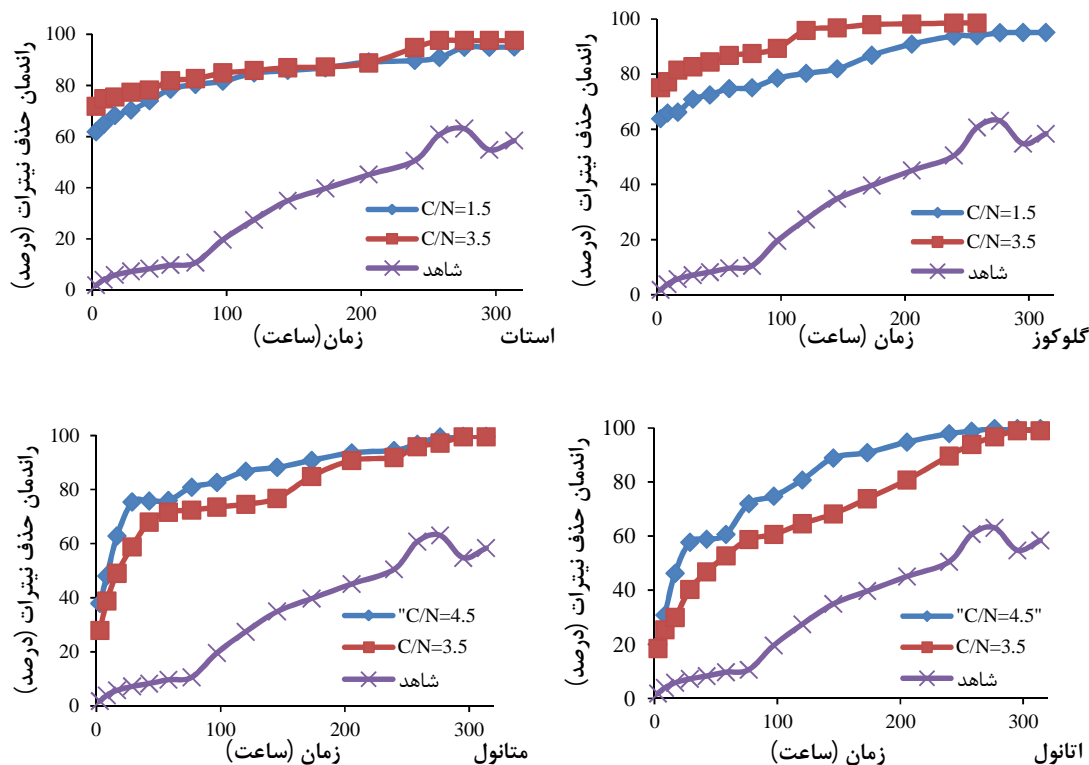
در شکل ۶، برای مقایسه بهتر، بین عملکرد ۱۳ بستر به منظور حذف نیترات، روند تغییرات راندمان و نرخ حذف نیترات در طول دوره آزمایش ارائه شده است. مطابق با شکل ۶، در بستر فاقد منابع کربنی، راندمان حذف نیترات با گذشت زمان افزایش یافته است؛ به طوری که بیشینه راندمان حذف ۵۸/۴٪ شد. بدیهی است که با گذشت زمان، در صورت اضافه‌نکردن منبع کربنی جدید،

هاشمی و همکاران (۱۳۹۰)، در مطالعه بررسی راندمان حذف نیترات در بسترهای نیترات‌زدای ساخته‌شده از منابع کربنی مشاهده کرده‌اند که در هر دو ستون حاوی منبع کربنی و فاقد منبع کربنی، نیترات خروجی به کمتر از نیترات ورودی کاهش یافته است و میزان نیترات خروجی در ستون‌های حاوی منبع کربنی جدید خیلی کمتر از ستون‌های فاقد منبع کربنی شده است.



آوردند، مطابقت دارد. در واقع، در ابتدا با اضافه کردن گلوکز و استات، باکتری به دلیل تعداد کربن بیشتر در غلظت برابر دچار شوک شد و راندمان حذف در ابتدای آزمایش‌ها برای گلوکز و استات بیشتر شد. در ادامه و با شروع حذف باکتریایی و به دلیل وجود گروه‌های عاملی اسیدی (کربوکسیل) و تجزیه آنها و خارج شدن آنها از ساختار گلوکز و استات، این گروه‌های عاملی خود به عنوان ممانعت‌کننده برای تکثیر بیشتر باکتری و در نهایت حذف بالاتر عمل می‌کنند. بنابراین در ابتدای آزمایش، پتانسیل حذف برای استات و گلوکز بالاتر است؛ ولی در پایان آزمایش به دلیل وجود ممانعت‌کننده‌های مذکور این امر کاهش می‌یابد. اما در ساختار متانول چنین ممانعت‌کننده‌هایی وجود ندارد و بنابراین، در ابتدای آزمایش راندمان کمتری نسبت به گلوکز و استات داشته و در پایان آزمایش‌ها به دلیل عدم وجود ساختارهای پیچیده کربوکسیل راندمان حذف بیشتر می‌شود. با عنایت به موارد ذکر شده می‌توان نتیجه گرفت که متانول به عنوان یک منبع کربنی برای تسریع فرایند هضم میکروبی نیترات توسط میکروارگانیسم‌ها مناسب‌ترین منبع کربنی است.

مقدار منبع کربنی موجود در بستر به واسطه مصرف و تجزیه توسط باکتری‌های فعال در بستر کاهش می‌یابد. کامرون و همکاران (۲۰۱۲)، بالابودن راندمان حذف در ابتدای دوره آزمایش را به انتشار زیاد کربن آلی در شروع فاز مطالعه نسبت داده‌اند. در بسترهای حاوی منابع کربنی، راندمان حذف نیترات در کل دوره آزمایش همچنان بالای ۹۰ درصد باقی مانده و حداکثر راندمان حذف ۹۹٪ در این نوع بسترها در پایان دوره آزمایش رخ داده است. متوسط راندمان حذف در بستر حاوی منابع کربنی گلوکز ۹۷/۸۳٪، استات ۹۷٪، متانول ۹۹٪ و اتانول ۹۸/۶۶٪ برآورد شدند. در شکل‌های زیر، راندمان حذف نیترات برای چهار منبع کربنی به نسبت کربن به نیتروژن ۱/۵ و ۳/۵ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش میزان نسبت کربن به نیتروژن درصد جداسازی برای هر چهار ماده افزایش یافته است. برای نسبت ۱/۵ و ۳/۵ متانول بیشترین میزان جداسازی را دارد که این پدیده با تجربه‌های قبلی سایر محققان، از جمله سیرینادان و همکاران (۲۰۱۶)، که راندمان حذف نیترات را با متانول ۹۸ درصد، کامرون و همکاران (۲۰۱۲) ۹۹ درصد و جانی و همکاران (۲۰۱۴) ۹۵ درصد به دست



شکل ۶- تغییرات راندمان حذف نیترات به تفکیک نوع بستر در طول دوره آزمایش

## میزان باکتری‌ها در طی آزمایش

همان‌طور که در جدول ۳ ملاحظه می‌شود، با افزایش غلظت منبع کربنی برای هر چهار ماده، میزان رشد و تکثیر باکتری افزایش می‌یابد. در مورد گلوکز کاهش میزان رشد باکتری نسبت به متانول را می‌توان به وجود پیوندهای کووالانسی بین شش اتم کربن موجود در ساختار این ماده دانست. متانول با توجه به ساختار الکلی و دارای گروه‌های عاملی هیدروکسیل و اسیدی درون ساختار خود توانسته است بیشترین رشد باکتری را در نسبت‌های ۱/۵ و ۳/۵ داشته باشد و این مهم به دلیل

بالا تر بودن میزان اکسیژن و هیدروژن بوده است. در مورد اتانول نیز این مسئله قابل بحث است؛ ولی کاهش رشد باکتری به دلیل پیوند کووالانسی بین اتم‌های کربن و سخت‌تر تجزیه شدن آن و مورد استفاده قرار گرفتن توسط باکتری نسبت به متانول است. در مورد استات مشاهده می‌شود که میزان رشد و تکثیر باکتری از سایر منابع کربنی کمتر است و این پدیده به علت اسیدی بودن و ساختار یون آنیون استات در آب است؛ زیرا ایجاد شرایط اسیدی درون محلول آب منجر به کاهش رشد باکتری و یا مرگ باکتری می‌شود.

جدول ۳- شمارش میزان باکتری‌ها در طول آزمایش

ردیف	نوع خاک	غلظت نیترات آب ورودی (mg/l)	بستر دنیتریفیکاسیون	مقدار باکتری‌های کل (cfu/gr)* ۱۰۰۰
۱	غیر استریل	۴/۰۴	فاقد منبع کربنی (در شروع آزمایش)	۱۲
۲	غیر استریل	۱۰۰	فاقد منبع کربنی	۸۰
۳	غیر استریل	۱۰۰	حاوی منبع کربنی (گلوکز C/N=1.5)	۱۰۸
۴	غیر استریل	۱۰۰	حاوی منبع کربنی (گلوکز C/N=3.5)	۱۲۱
۵	غیر استریل	۱۰۰	حاوی منبع کربنی (استات C/N=1.5)	۹۸
۶	غیر استریل	۱۰۰	حاوی منبع کربنی (استات C/N=3.5)	۱۰۷
۷	غیر استریل	۱۰۰	حاوی منبع کربنی (اتانول C/N=1.5)	۱۰۶
۸	غیر استریل	۱۰۰	حاوی منبع کربنی (اتانول C/N=3.5)	۱۱۹
۹	غیر استریل	۱۰۰	حاوی منبع کربنی (متانول C/N=1.5)	۱۱۰
۱۰	غیر استریل	۱۰۰	حاوی منبع کربنی (متانول C/N=3.5)	۱۳۱

## تحلیل آماری

برای بررسی رابطه همبستگی بین منابع کربنی از آزمون جفتی در نرم‌افزار SPSS استفاده شد. در جدول ۴، ضرایب همبستگی (Paired Samples Correlation) بین منابع کربنی دو به دو در دو نسبت کربن به نیتروژن ۱/۵ و ۳/۵ و همچنین در جدول ۶ و ۷ همبستگی بین هر منبع کربنی

با خودش در دو نسبت ۱/۵ و ۳/۵ با هم مقایسه شدند. با توجه به جدول مذکور، همبستگی معنی‌داری بین این منابع کربنی به‌صورت دو به دو وجود دارد. نتایج نشان می‌دهد، رفتار تمامی منابع کربنی به ضریب همبستگی میانگین ۰/۹۸ مشابه یکدیگر است.

جدول ۴- مقایسه ضریب همبستگی غلظت منابع کربنی در نسبت کربن به نیتروژن ۱/۵ و ۳/۵

منابع کربنی	تعداد داده‌ها	ضریب همبستگی (C/N=1.5)	ضریب همبستگی (C/N=3.5)	معنی‌داری
گلوکز-استات	۳۴	۰/۹۷۰	۰/۹۸۳	۰/۰۰۰
گلوکز-متانول	۳۴	۰/۹۵۳	۰/۹۶۳	۰/۰۰۰
گلوکز-اتانول	۳۴	۰/۹۶۷	۰/۹۶۹	۰/۰۰۰
استات-متانول	۳۴	۰/۹۸۶	۰/۹۸۹	۰/۰۰۰
استات-اتانول	۳۴	۰/۹۶۸	۰/۹۷۳	۰/۰۰۰
متانول-اتانول	۳۴	۰/۹۸۷	۰/۹۸۹	۰/۰۰۰

دو منفی هستند؛ در واقع، تفاوت میانگین دو جامعه (منظور از هر جامعه، غلظت‌های خروجی نیترا برای یک منبع کربنی است) کمتر از صفر است. در مورد گلوکز-استات با توجه به مقدار ضریب معنی‌داری تفاوت میانگین دو جامعه معنی‌دار نیست. با توجه به جدول ۶، همبستگی معنی‌داری بین منبع کربنی با خودش با دو نسبت کربن به نیتروژن ۱/۵ و ۳/۵ وجود دارد.

جدول ۵، نتایج آزمون t (Paired Samples Test) را نشان می‌دهد. ضریب معنی‌داری (مقایسه حذف نیترا برای دو منبع کربنی متفاوت) در منابع کربنی به جز گلوکز-استات از سطح اطمینان ۵ درصد کوچک‌تر است؛ در واقع، می‌توان نتیجه گرفت تفاوت چشمگیری بین میانگین غلظت منابع کربنی که به صورت دو به دو با هم مقایسه شده‌اند، وجود دارد. همان‌طوری که در جدول‌های ۵ و ۶ مشاهده می‌شود، حد بالا و پایین به جز گلوکز-استات هر

جدول ۵- مقایسه ضریب معنی‌داری غلظت منابع کربنی در نسبت کربن به نیتروژن ۱/۵ و ۳/۵

منبع کربنی	میانگین	انحراف معیار	خطای معیار میانگین	سطح اطمینان ۹۵%		درجه آزادی	معنی‌داری
				حد پایین	حد بالا		
(C/N=1.5)							
گلوکز-استات	۰/۶۵	۲/۱۳	۰/۶۶	-۰/۷۶	۲/۰۶	۱۶	۰/۳۴۰
گلوکز-متانول	-۱/۰۲	۱۲/۲۲	۳/۴۷	-۱۷/۶۳	-۲/۸۸	۱۶	۰/۰۰۹
گلوکز-اتانول	-۲/۰۸	۱۶/۶۶	۳/۸۴	-۲۹/۰۲	-۱۲/۷۱	۱۶	۰/۰۰۰
استات-متانول	-۱/۰۹	۱۳/۳۵	۳/۵۰	-۱۸/۳۳	-۳/۴۸	۱۶	۰/۰۰۷
استات-اتانول	-۲/۵۱	۱۷/۸۶	۴/۰۶	-۳۰/۱۳	-۱۲/۹۰	۱۶	۰/۰۰۰
متانول-اتانول	-۱/۰۶	۷/۰۳	۱/۸۴	-۱۴/۵۲	-۶/۶۹	۱۶	۰/۰۰۰
(C/N=3.5)							
گلوکز-استات	-۰/۵۱	۲/۱۳	۰/۵۱	-۱/۶۱	۰/۵۸	۱۶	۰/۳۳۸
گلوکز-متانول	-۱/۱۵	۱۲/۲۲	۲/۹۶	-۱۷/۸۶	-۵/۲۹	۱۶	۰/۰۰۱
گلوکز-اتانول	-۲/۱۷	۱۶/۶۶	۴/۰۴	-۳۰/۲۹	-۱۳/۱۵	۱۶	۰/۰۰۰
استات-متانول	-۱/۰۷	۱۳/۳۵	۳/۲۳	-۱۷/۹۳	-۴/۲۰	۱۶	۰/۰۰۴
استات-اتانول	-۲/۱۲	۱۷/۸۶	۴/۳۳	-۳۰/۴۰	-۱۲/۰۳	۱۶	۰/۰۰۰
متانول-اتانول	-۱/۰۱	۷/۰۳	۱/۷۰	-۱۳/۷۶	-۶/۵۲	۱۶	۰/۰۰۰

جدول ۷، نتایج آزمون t (Paired Samples Test) را برای هر منبع کربنی در دو نسبت نشان می‌دهد. ضریب معنی‌داری (مقایسه راندمان حذف نیترا برای هر منبع کربنی با خودش در دو نسبت ۱/۵ و ۳/۵) در منابع کربنی از سطح اطمینان ۵ درصد کوچک‌تر است؛ در واقع، می‌توان نتیجه گرفت تفاوت چشمگیری بین میانگین راندمان حذف نیترا هر منبع کربنی با خودش در دو نسبت که با هم مقایسه شده‌اند، وجود دارد.

جدول ۶- مقایسه ضریب همبستگی بین غلظت‌های ۱/۵ و ۳/۵ هر منبع کربنی

منبع کربنی	تعداد داده‌ها	ضریب همبستگی	معنی‌داری
گلوکز-گلوکز	۳۴	۰/۹۹۴	۰/۰۰۰
استات-استات	۳۴	۰/۹۶۸	۰/۰۰۰
اتانول-اتانول	۳۴	۰/۹۹۰	۰/۰۰۰
متانول-متانول	۳۴	۰/۹۹۷	۰/۰۰۰

جدول ۷- مقایسه ضریب معنی‌داری راندمان حذف دو غلظت منابع کربنی در نسبت کربن به نیتروژن ۱/۵ و ۳/۵

منبع کربنی	میانگین	انحراف معیار	خطای معیار میانگین	سطح اطمینان ۹۵%		درجه آزادی	معنی‌داری
				حد پایین	حد بالا		
گلوکز-گلوکز	-۵/۱۸	۱/۷۷	۰/۴۳	-۶/۰۹	-۴/۲۶	۱۶	۰/۰۰۰
استات-استات	-۴/۰۱	۳/۱۵	۰/۷۶	-۵/۶۳	-۲/۳۹	۱۶	۰/۰۰۰
اتانول-اتانول	-۴/۳۲	۳/۷۶	۰/۹۱	-۶/۲۵	-۲/۳۸	۱۶	۰/۰۰۰
متانول-متانول	-۳/۸۵	۳/۷۸	۰/۹۱	-۵/۸۰	-۱/۹۱	۱۶	۰/۰۰۱

## نتیجه‌گیری

حذف بیولوژیکی نیترات با استفاده از روش‌ها و منابع کربنی مختلف صورت می‌گیرد. در این پژوهش، سعی شد که با استفاده از خاک طبیعی منطقه به حذف درجا نیترات در آزمایشگاه پرداخته شود. از میان چهار منبع کربنی استفاده‌شده، متانول با راندمان حذف ۹۹ درصد توانسته به‌خوبی نیترات به غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر را حذف کند و نیترات موجود در آب زیرزمینی را به  $1/2$  میلی‌گرم بر لیتر پس از گذشت تقریباً ۲۵۰ ساعت از شروع آزمایش برساند. نتایج نشان داد دلیل حذف نیترات را می‌توان به رشد باکتری‌های نیترات‌خوار نسبت داد که در پایان هر آزمایش مقدار کل آنها شمارش شدند. مقدار کل باکتری‌های شمارش‌شده به ۱۳۱۰۰۰ رسید که بیانگر مفید و مناسب بودن شرایط رشد باکتری‌ها است. در واقع، می‌توان نتیجه گرفت که متانول، یک ماده کربنی مناسب برای حذف نیترات در آب است. در تحلیل آماری هم با توجه به مقادیر ضریب معنی‌داری در هر دو نسبت کربن به نیتروژن دیده شد که به‌جز گلوکز-استات تفاوت چشمگیری در میانگین غلظت منابع کربنی وجود دارد. همچنین، آزمون زوجی بین غلظت‌های مختلف یک منبع کربنی نشان داد که همبستگی معنی‌داری بین غلظت‌های  $1/5$  و  $3/5$  برای هر منبع کربنی وجود دارد.

## منابع

۱. ناصرخاکی ا. ۱۳۹۴. حذف نیترات از آب با روش‌های مختلف. کنفرانس ملی علوم و مهندسی شیمی. کد ۶۰۰۱. بابل - مؤسسه علمی تحقیقاتی کومه علم‌آوران دانش.
۲. هاشمی س. ا. حیدرپور م. و مصطفی‌زاده فرد ب. ۱۳۹۰. بررسی میزان حذف نیترات در دو حالت قرار فیلترهای زیستی در سیستم‌های زهکشی زیرزمینی. علوم و مهندسی آبیاری مجله علمی و کشاورزی. ۳۴(۲): ۷۱-۸۱.
۳. Aksu Z. and Gonen F. 2004. Biosorption of phenol by immobilized activated sludge in a continuous packed bed: prediction of breakthrough curves. *Process Biochemistry*. 39: 599-613.
۴. Cameron S. G. and L. A. Schipper. 2012. Nitrate removal and hydraulic performance of organic carbon for use in denitrification beds. *Ecological engineering*. 36(11): 1588-1595.
5. Collina E. Bestetti Gennaro G. Franzetti P. Lasagni M. Pitea D. and Gugliers F. 2005. Naphthalene biodegradation kinetics in an aerobic slurry phase bioreactor. *Environment International*. 31: 167-171.
6. Dadkhah A. Rabiee M. Rashidi A. Tasharofi S. and Mansourkhani F. 2018. One Step Synthesis of Nitrogen-Doped Graphene from Naphthalene and Urea by Atmospheric Chemical Vapor Deposition. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*. 27(1): 1574-1443.
7. Della Rocca C. Belgiorno V. and Meric S. 2007. Overview of in-situ applicable nitrate removal processes *Desalination*. 204: 46-62.
8. EEA (European Environmental Agency). 2012. European waters-assessment status and pressures. EEA Report, No 8/2012 (Copenhagen, Denmark).
9. Fahrner. S. 2002. Groundwater nitrate removal using a bioremediation trench. Honours, University of Western Australia. 125 p.
10. Ghane E. Fausey N. R. and Brown L. C. 2015. Modeling nitrate removal in a denitrification bed. *Water research*. 71: 294-305.
11. Greenan C. M. Moorman T. B. Kaspar T. C. Parkin T. B. and Jaynes D. B. 2006. Comparing carbon substrates for denitrification of subsurface drainage water. *Journal of Environmental Quality*. 35(3): 824-829.
12. Groffman P. M. Altabet M. A. Böhlke J. Butterbach-Bahl K. David M. B. Firestone M. K. and Voytek M. A. 2006. Methods for measuring denitrification: diverse approaches to a difficult problem. *Ecological Applications*. 16(6): 2091-2122.
13. Healy M. G. Ibrahim T. G. Lanigan G. J. Serrenho A. J. and Fenton O. 2012. Nitrate removal rate. Efficiency and pollution swapping potential of different organic carbon media in laboratory denitrification bioreactors. *ECOL ENG*. 40:198-209.
14. Hill A. R. and M. Cardaci. 2004. Denitrification and organic carbon availability in riparian wetland soils and subsurface sediments. *Soil Science Society of America Journal*. 68(1): 320-325.
15. Hu Q. Chen N. Feng C. and Hu W. 2015. Nitrate adsorption from aqueous solution using granular chitosan-Fe  $3+$  complex. *Applied Surface Science*. 347: 1-9.
16. Jackson C. R. and Vallaire S. C. 1997. Effects of salinity and nutrients on microbial assemblages in Louisiana wetland sediments. *Wetlands*. 29(1): 277-287.
17. Keränen A. Leiviskä T. Hormi O. and Tanskanen J. 2015. Removal of nitrate by modified pine sawdust: Effects of temperature and co-existing anions. *Journal of Environmental Management*. 147: 46-54.

- phase denitrification process. *Biotechnology Advances*, Article in press.
31. Zhao L. Meng Q. Ren L. Liu W. Zhang X. Huo Y. and Zhou Z. 2015. Effects of nitrate addition on rumen fermentation. *Bacterial Biodiversity and Abundance. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 28(10): 1433-1441.
  32. Zhu S M. Deng Y. L. Ruan Y. J. Guo X. S. Shi M. M. and Shen J. Z. 2006. Biological denitrification using poly (butylene succinate) as carbon source and biofilm carrier for recirculating aquaculture system effluent treatment. *Bioresource technology*. 192: 603-610.
  18. Lin Y. F. Jing S. R. Lee D. Y. Chang Y. F. and Shih K. C. 2008. Nitrate removal from groundwater using constructed wetlands under various hydraulic loading rates. *Bioresource technology*. 99(16): 7504-7513.
  19. Mahvi A. Nouri J. Babaei A. and Nabizadeh R. 2005. Agricultural activities impact on groundwater nitrate pollution *International Journal of Environmental Science & Technology*. 2(1): 41-47.
  20. Paul Chen J. Yoon J. T. and Yiacoumi S. 2003. Effects of chemical and physical properties of influent on copper sorption onto activated carbon fixed-bed columns. *Carbon*. 41: 1635-1644.
  21. Payne W. 1973. Reduction of nitrogenous oxides by microorganisms. *Bacteriological Reviews*. 37(4): 409.
  22. Rabiee M. Dadkhah A. Rashidi A. Tasharofi S. and Mansourkhani F. 2017. Newly MOF-Graphene Hybrid Nanoadsorbent for Removal of Ni (II) from Aqueous Phase. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*. 27(1): 1574-1443.
  23. Sadeq M. Moe C. L. Attarassi B. Cherkaoui I. ElAouad R. and Idrissi L. 2008. Drinking water nitrate and prevalence of methemoglobinemia among infants and children aged 1-7 years in Moroccan areas. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 211(5): 546-54.
  24. Salminen J. Petäjäjärvi S. Tuominen S. and Nystén T. 2014. Ethanol-based in situ bioremediation of acidified, nitrate-contaminated groundwater. *Water research*. 63: 306-315.
  25. Shapleigh J. P. 2006. The Denitrifying Prokaryotes. In: Dworkin M. Falkow S. Rosenberg E. Schleifer K.- H. Stackebrandt E. (Eds.). *The Prokaryotes*. Springer, New York, NY. 769-792.
  26. Skrinde J. R. and Bhagat S. K. 1982. Industrial wastes as carbon sources in biological denitrification. *Journal (Water Pollution Control Federation)*. 370-377
  27. Soares M. 2002. Biological denitrification of groundwater *Environmental Challenges*. 183-193. Springer.
  28. Srinandan C. S. Glen D'souza A. Nidhi Srivastava B. Binaya Bhusan Nayak C. and Anuradha Nerurkar S. 2016. Carbon sources influence the nitrate removal activity. Community structure and biofilm architecture. *Bioresource Technology*. 117: 292-299.
  29. Volokita M. Abeliovich A. and Soares M. I. M. 1996. Denitrification of groundwater using cotton as energy source. *Water Science and Technology*. 34(1-2): 379-385.
  30. Wang J. and Libing C. 2016. Biological nitrate removal from water and wastewater by solid-

