

بررسی مکانیسم حذف بیولوژیکی دی اتیل فتالات و دی آلایل فتالات در تصفیه فاضلاب سنتتیک

احسان احمدی^۱، میترا غلامی^{۳*}، مهدی فرزادکیا^۲، رامین نبی زاده^۴، علی اسرافیلی^۵، علی آذری^۲

^۱مرکز تحقیقات کیفیت آب، پژوهشکده محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
^۲دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
^۳دانشیار گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
^۴استاد گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
^۵استادیار گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: در سالهای اخیر استرهای اسید فتالیک در نتیجه ی تولید و مصرف گسترده توجه فزاینده ای را جلب نموده اند. استرهای اسید فتالیک به اختلالات غدد درون ریز و سرطان مرتبط بوده و همچنین به عنوان آلاینده های نوپدید و خطرناک در نظر گرفته شده اند. فاضلاب صنایع یکی از محیط هایی است که مقادیر زیادی از این آلاینده ها در آن تشخیص داده شده است و با توجه به کاربرد متداول فرایندهای بیولوژیکی در تصفیه فاضلاب صنایع، این مطالعه با هدف شناسایی مسیر تجزیه زیستی استرهای اسید فتالیک و متابولیت های آن به انجام رسیده است.

مواد و روش ها: در این مطالعه دو استر زنجیره کوتاه از خانواده استرهای اسید فتالیک شامل دی اتیل فتالات و دی آلایل فتالات انتخاب شده و با بررسی متابولیت های موجود در پساب حاصل از تجزیه ی بیولوژیکی آنها توسط راکتور رشد چسبیده با بستر متحرک در زمان های ماند هیدرولیکی ۱ تا ۱۲ ساعت و غلظت ثابت ورودی ۱۰۰ mg/L، مسیر تجزیه ی آنها تعیین شد.

یافته ها: مهم ترین متابولیت هایی که در تجزیه زیستی هر دو استر مورد مطالعه مشاهده شدند شامل: فتالیک اسید، مونو متیل فتالات، دی متیل فتالات و کاتکول بودند. مسیر تجزیه هر دو ترکیب مورد مطالعه مشابه بوده و با جدا شدن زنجیره ی استری و یا حذف گروه متیل آغاز می شود و پس از چند مرحله تجزیه حلقه ی بنزنی باقی مانده به ۲-هیدروکسی موکونیک سمی آلدهید شکسته می شود.

نتیجه گیری: مسیر اصلی حذف هر دو ترکیب حذف زنجیره ی استری بوده و پس از آن حذف گروه متیل قرار دارد. با توجه به مسیر تجزیه و متابولیت های تولید شده، فرایندهای بیولوژیکی به عنوان راه حلی قابل اطمینان می تواند مطرح شود.

کلید واژه ها: استرهای اسید فتالیک، فاضلاب سنتتیک، تجزیه بیولوژیکی

*آدرس نویسنده مسئول:

دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران. تلفن: ۰۲۱-۸۸۶۲۲۰۶

Email: gholamim@iums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۱۲/۲۰

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۰۳/۲۸

مقدمه

آلودگی‌های محیط زیستی حاصل از فعالیت‌های صنعتی در دهه‌های اخیر به یک مبحث بحرانی مبدل شده است، زیرا انتشار طیف گسترده‌ای از آلاینده‌ها در جهان موجب تخریب بسیاری از اکوسیستم‌هایی که زندگی انسان‌ها به آن وابسته است، شده است [۱-۳]. یک دسته از ترکیبات شیمیایی سنتتیک که توسط فعالیت صنایع موجب آلودگی محیط زیست شده اند [۴] اعضای خانواده استرهای اسید فتالیک (PAEs) هستند که کاربردشان به عنوان پلاستی سائزر از سال ۱۹۳۰ میلادی آغاز شده و در حدود ۸۰٪ از کل تولید پلاستی سائزها را به خود اختصاص داده اند [۵-۷]. استرهای اسید فتالیک که در دسته‌ی ترکیبات سخت تجزیه پذیر، خطرناک و نو پدید قرار داده شده اند [۸-۱۰] غالباً به منظور افزایش انعطاف پذیری ترکیبات پلیمری و پلاستیک استفاده شده [۱۱،۱۲] و در بسته بندی مواد غذایی [۱۳]، رنگ و جلادهنده‌ها، چسب‌ها [۱۴،۱۵]، صنایع کاغذ و مقوا سازی [۱۶] و... به کار گرفته می‌شوند. استرهای اسید فتالیک به دلیل کاربرد وسیع و توانایی نشت پیدا کردن از محصولات، حتی پس از مرحله ی ساخت و در زمان دفن شدن در سراسر محیط زیست پخش شده‌اند [۱۱،۱۷،۱۸].

در حال حاضر نیز با توجه به توانایی PAEs در ایجاد اختلال در عملکرد هورمون‌ها و غدد درون ریز [۱۹-۲۲]، مشکلات تولید مثلی [۲۳،۲۴]، سمیت، سرطان و جهش زایی ژنی [۲۵-۲۶، ۲۳-۲۵]، سقط مکرر جنین و... [۲۶] این ترکیبات در لیست آلاینده‌های دارای اولویت آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا و اتحادیه اروپا قرار گرفته اند [۲۶-۳۱]. یکی از محیط‌هایی که این ترکیبات حتی تا غلظت ۵۰۰ mg/L مشاهده و گزارش شده‌اند فاضلاب‌های خروجی صنایع است [۳۲] با توجه به موارد فوق الذکر فاضلاب صنایع حاوی فتالات‌ها در پرتوی وضعیت جدید قبل از تخلیه به سیستم فاضلاب شهری و یا بدنه ی آبی نیاز به تکنولوژی‌هایی دارند که بتواند به طور

مواد و روش‌ها:

از DEP و DAP به عنوان تنها منبع کربن در فاضلاب سنتتیک این پژوهش استفاده شده و سایر ترکیبات فاضلاب سنتتیک شامل مواد ریز مغذی مورد نیاز برای رشد باکتری‌ها طبق جدول (۱) تهیه و مورد استفاده قرار گرفتند [۳۵]. خصوصیات فیزیکی شیمیایی استرهای مورد مطالعه و برخی دیگر از استرهای حائز اهمیت در این مطالعه در جدول (۲) ارائه شده است. در طول مطالعه نسبت COD/N/P فاضلاب سنتتیک نیز به ترتیب ۱۰۰/۵/۱ حفظ شد و به همین منظور از NH_4Cl و NH_4HCO_3 با نسبت برابر، به عنوان منبع نیتروژن و از KH_2PO_4 به عنوان منبع فسفر استفاده شد. همچنین pH فاضلاب ورودی در محدوده ی ۷/۵ تنظیم گشت.

جدول ۱ - ترکیبات ریز مغذی فاضلاب سنتتیک

غلظت در هر لیتر فاضلاب سنتتیک (mg/l)	فرمول شیمیایی ترکیب	غلظت در هر لیتر فاضلاب سنتتیک (mg/l)	فرمول شیمیایی ترکیب
۰/۴۵	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	۱۴	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
۰/۰۳۶	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	۹۰	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
۰/۰۴۵	$\text{Co} \cdot \text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	۳	EDTA
۰/۰۳۶	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	۰/۰۴۵	H_3BO_3
۰/۰۰۹	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	۰/۰۱۸	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
		۰/۰۵۴	KI

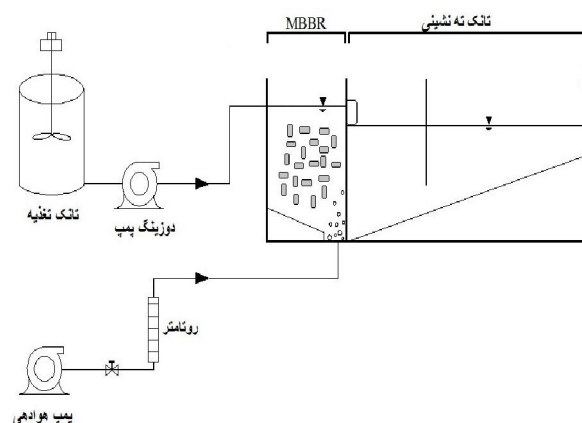
جدول ۲- خصوصیات فیزیکی شیمیایی استرهای اسید فتالیک [۱۱,۳۶,۳۷]

ترکیب	نام	M.W* (g/mol)	انحلال پذیری (g/l) در آب (۲۵ °C)	Log K _{ow} **	فرمول ساختاری
Diethyl phthalate	DEP	۲۲۲/۲	۱/۰۰۰	۲/۷	$C_6H_4(COOC_2H_5)_2$
Diallyl phthalate	DAP	۲۴۶/۲	۰/۱۸۲	۳/۲۹	$C_6H_4(COOCH_2CH=CH_2)_2$
Dimethyl phthalate	DMP	۱۹۴/۲	۴/۰۰۰	۱/۶۱	$C_6H_4(COOCH_3)_2$
Phthalic acid	PA	۱۶۶/۱	۰/۶۲۵	۰/۸۱	$C_6H_4(COOH)_2$

* وزن مولکولی

** ثابت اکتانول به آب

پایلوت مورد استفاده در این مطالعه یک راکتور شیشه‌ای با دو بخش اصلی بود. طبق شکل (۱) بخش اول محفظه‌ای است که در حدود ۵۰٪ آن توسط مدیای متحرک پر شده و دارای حجم مفیدی در حدود ۴ لیتر بوده و تجزیه ی زیستی استرهای مورد مطالعه در این بخش انجام می شد. کف این قسمت مثلی شکل بوده و دارای شیبی به سمت سنگ هوا بوده که باعث چرخش فاضلاب شده و از ته نشینی و تجمع لجن داخل بیوراکتور ممانعت می نمود.



شکل ۱- شماتیک پایلوت MBBR استفاده شده در پژوهش

در ادامه بیوراکتور به محفظه‌ی کوچکتري وصل شده بود تا نمونه برداری از پساب خروجی بیوراکتور (sampling port) ممکن شود. مدیای استفاده شده جهت تشکیل بیوفیلم از جنس پلی اتیلن فشرده (HDPE) و دارای سطح ویژه‌ای معادل با $535 \text{ m}^2/\text{m}^3$ و دانسیته‌ی $0.95-0.98 \text{ g/cm}^3$ بود. از یک هیتر مجهز به ترموستات به منظور حفظ دمای فاضلاب در محدوده‌ی $20 \pm 2^\circ \text{C}$ نیز استفاده شد. به عنوان دومین بخش فرایند نیز تانک ته نشینی شیب دار جهت جداسازی بیوفیلم‌های ریزش کرده یا همان لجن خروجی در نظر گرفته شد.

به منظور راه اندازی بیوراکتور از لجن برگشتی تصفیه خانه‌ی اکباتان استفاده شد و در ابتدا فاضلاب سنتتیک حاوی گلوکز با غلظت 200 mg/L توسط دوزینگ پمپ (ETATRON-Italy) وارد بیوراکتور گردید، در این مرحله لجن‌های ته نشین شده در تانک ته نشینی توسط دوزینگ پمپ مشابه دیگری به بیوراکتور برگشت داده می شد. پس از رسیدن راندمان حذف COD به حدود ۸۰٪، و مشاهده رشد مناسب بیوفیلم گلوکز به تدریج با اولین استر اسید فتالیک مورد مطالعه جایگزین می گردید.

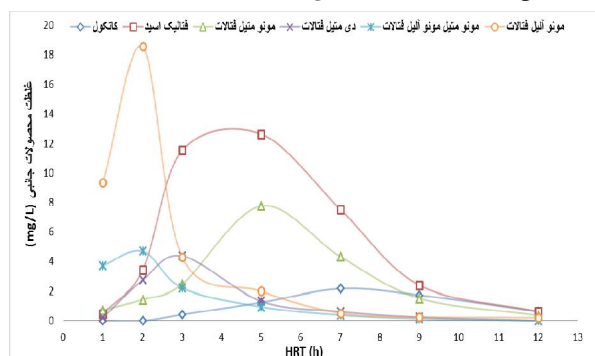
میزان غلظت اکسیژن محلول در محدوده 4 mg/l حفظ شد. آزمایش اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (COD)، بر اساس روش آنالیز ارائه شده در کتاب استاندارد متد، سنجش شد [۳۸,۳۹]. سنجش کل کربن آلی (TOC) با استفاده از دستگاه (ژاپن، Shimadzu، TOC-Vcsh) و پس از عبور نمونه‌ها از فیلتر $0.45 \mu\text{m}$ میکرومتری انجام شد [۴۰].

برای سنجش دو استر اسید فتالیک مورد مطالعه، 10 ml نمونه ابتدا از فیلتر فایبر گلاس $0.7 \mu\text{m}$ میکرومتری عبور داده شده و سپس بوسیله‌ی 2 ml از محلول n-hexan استخراج صورت گرفته و نهایتاً نمونه استخراج شده به دستگاه کروماتوگرافی گازی (Crompack-CP ۹۰۰۱) مجهز شده به دتکتور یونیزاسیون شعله (FID) و ستون HP-۵ تزریق می شد. از نفتالن به عنوان استاندارد داخلی استفاده شد [۴۱]. درصد استخراج (بازیافت) صورت گرفته استرهای فتالات توسط DEP برای n-hexan و DAP به ترتیب معادل با $94-98\%$ و $97-100\%$ محاسبه شد. دمای اولیه آون (Oven) به مدت ۸ دقیقه در 70°C نگه داشته شده و با آهنگ 30°C تا زمان رسیدن به 270°C افزایش داده می شود، سپس دمای نهایی آون به مدت ۵ دقیقه در این دما ثابت نگه داشته می شود. همچنین حجم تزریق $2 \mu\text{l}$ میکرولیتر بوده و دمای اینجکتور و دتکتور به ترتیب بر روی 250°C و 260°C تنظیم شده بود.

در ابتدای تجزیه‌ی بیولوژیکی فاضلاب حاوی استرهای مورد مطالعه در راکتور MBBR، حذف دو ترکیب DEP و DAP با سرعت بسیار بیشتری نسبت به حذف COD و TOC صورت می‌گیرد به نحوی که در زمان ماند هیدرولیکی ۱ ساعت ۵۹/۷۹٪ از DEP تجزیه شده در حالی که میزان حذف COD و TOC به ترتیب ۳۱/۱۱٪ و ۲۷/۳۲٪ می‌باشد، همچنین میزان تجزیه DAP نیز در شرایط مشابه ۵۶/۴۵٪ بوده ولی میزان حذف COD و TOC به ترتیب ۳۲/۴۶٪ و ۲۹/۶٪ می‌باشد، این اختلاف راندمان بین کاهش غلظت استرهای حذف شده و دو پارامتر COD و TOC تا زمان ماند هیدرولیکی ۳ ساعت به وضوح مشاهده می‌شود ولی پس از این زمان به تدریج راندمان حذف استرهای مورد مطالعه کندتر شده و در زمان ماند هیدرولیکی ۷ ساعت برای هر دو ترکیب به حدود ۹۰٪ می‌رسد و از سوی دیگر بین زمان ماند ۲ تا ۷ ساعت راندمان حذف COD و TOC سریع تر افزایش می‌یابد. همچنین راندمان حذف DEP و COD آن، در مقایسه با حذف DAP در طول فازهای مختلف مطالعه عموماً بیشتر است ولی حذف TOC مرتبط با DAP در زمان ماند هیدرولیکی ۱ تا ۲ ساعت بیشتر از میزان حذف مشاهده شده در حذف DEP است.

راندمان حذف هر سه پارامتر COD، TOC و استرهای هدف با افزایش زمان ماند هیدرولیکی افزایش یافته و در زمان ماند ۱۲ ساعت برای DEP و DAP تقریباً به حداکثر مقدار خود می‌رسد که به ترتیب برابر با (۸۷٪، ۷۹/۵٪، ۹۳/۶٪) و (۸۵/۶٪، ۷۷/۴٪، ۹۲/۴٪) است.

شکل‌های (۴) و (۵) محصولات جانبی تولید شده اصلی در فرایند تجزیه بیولوژیک را نشان می‌دهند و بر طبق آنها مهم ترین متابولیت‌ها که در تجزیه هر دو استر به طور مشترک وجود دارند به ترتیب شامل: فتالیک اسید، مونو متیل فتالات، دی متیل فتالات و کاتکول می‌باشند.

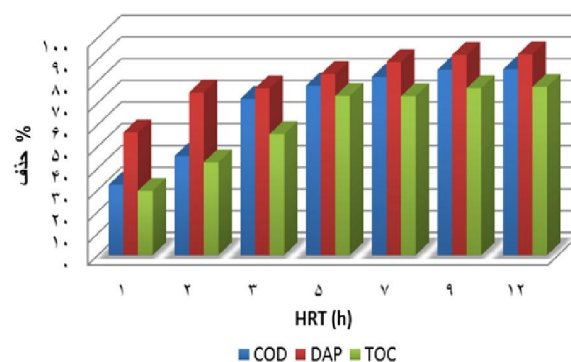


شکل ۴- محصولات جانبی تولید شده اصلی در فرایند تجزیه بیولوژیک (DAP)

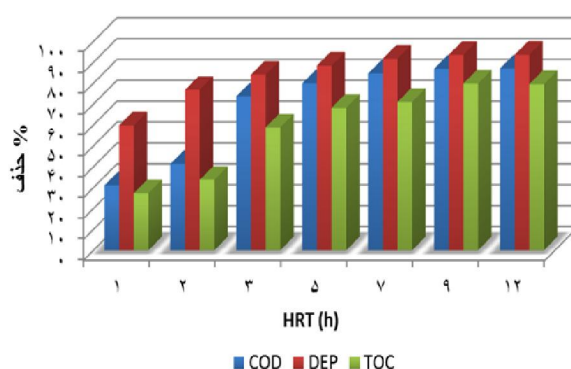
گاز نیتروژن نیز به عنوان گاز حامل مورد استفاده قرار گرفت. شناسایی و بررسی محصولات جانبی حاصل از تجزیه نیز توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی (Agilent ۷۸۹۰) مجهز شده به دتکتور Mass Spectrometry (GC-MS) و ستون HP-۵ صورت گرفت [۱۱]. به منظور امکان پذیر شدن سنجش متابولیت‌ها و محصولات جانبی و همچنین تعیین مسیر تجزیه بیولوژیکی دو استر انتخاب شده، پساب خروجی در هفت سطح از زمان ماند هیدرولیکی (HRT) (۱-۱۲ ساعت) و با غلظت ورودی ثابت ۱۰۰ mg/l از استرهای هدف، مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها

آزمایش تعیین میزان اکسیژن مورد نیاز شیمیایی تولید شده توسط استرهای مورد مطالعه نشان داد که هر یک میلی گرم از DEP و DAP در هر لیتر از فاضلاب سنتتیک به ترتیب COD معادل با ۱/۸۳ mg/l و ۱/۹ mg/l را ایجاد می‌کنند. شکل‌های (۲) و (۳) به ترتیب درصد حذف استر، COD و TOC را در زمان ماندهای هیدرولیکی مختلف نشان می‌دهند.



شکل ۲- نمودار حذف COD، DAP و TOC در برابر زمان ماند هیدرولیکی



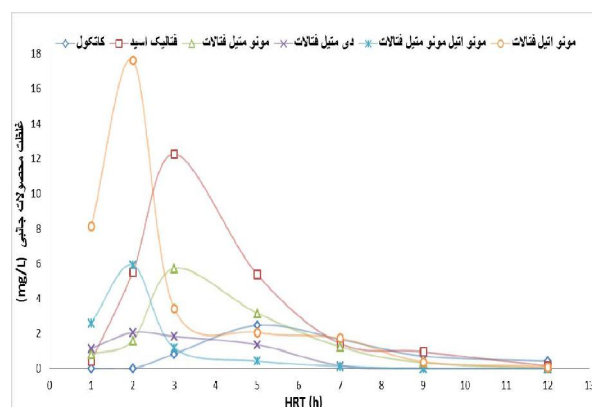
شکل ۳- نمودار حذف COD، DEP و TOC در برابر زمان ماند هیدرولیکی

و مونو متیل مونو آلیل فتالات و همچنین DEP به مونو اتیل فتالات و مونو اتیل مونو متیل فتالات، غلظتشان کاهش می‌یابد ولی ترکیبات جانبی تشکیل شده فوق‌الذکر همچنان به عنوان منبع COD و TOC باقی می‌مانند و از لحاظ پتانسیل تولید COD تفاوت چندانی با ترکیبات مادرشان ندارند.

برطبق نتایج حاصل از شکل (۴) در زمان تجزیه DAP نخستین محصول‌های جانبی تشکیل شده مونو آلیل فتالات با غلظت $9/33 \text{ mg/l}$ و مونو متیل مونو آلیل فتالات با غلظت $3/72 \text{ mg/l}$ در زمان ۱ ساعت هستند که به ترتیب به واسطه حذف زنجیره‌ای استری (De-estriification) و گروه متیل (De-methylation) از DAP تولید شده‌اند، که از این نظر با مطالعه‌ای انجام شده توسط Amir و همکارانش (۲۰۰۵) بر روی روند تجزیه استرهای اسید فتالیک با زنجیره بلند از قبیل Di-(2-ethylhexyl) phthalate در فرآیند کمپوست سازی تشابه دارد [۴۳] و با توجه به نسبت غلظت هر دو ترکیب جانبی ذکر شده و همچنین غلظت بالاتر پروپیلن نسبت به اتن (گروه‌های جدا شده از DAP که توسط جرم میکروبی و آنزیم سنتز شده‌اند) به نظر می‌رسد مسیر اصلی حذف بیولوژیکی دی آلیل فتالات، حذف زنجیره‌ای استری است. ممکن است علت این امر در قدرت پیوندی بیشتر گروه $(R-CH=CH_2)$ نسبت به $(R-O-CH_2-R)$ در این ترکیب باشد. مقادیر کم متان مشاهده شده در پساب خروجی در زمان ماند هیدرولیکی ۱ و ۲ ساعت احتمالاً به دلیل تبدیل مونو متیل مونو آلیل فتالات به مونو آلیل فتالات می‌باشد. علی‌رغم این که تولید متان عموماً در شرایط بی‌هوازی مشاهده می‌شود [۴۴]، تعدادی از مطالعات تولید متان در شرایط هوازی در محیط‌های آبی از ترکیبات آلی و فسفر دار را نشان داده‌اند. Karl و همکارانش (۲۰۰۸) گزارش کردند که تولید متان در شرایط هوازی در حضور ارگانیسم‌های تاثیر گذار بر چرخه نیتروژن تشدید می‌شود [۴۵-۴۷] که با توجه به مزیت راکتور MBBR در حفظ ارگانیسم‌های با رشد آهسته تر نظیر ارگانیسم‌های نیتروژن‌زا توسط رشد چسبیده و جلوگیری از شسته شدن آنها، تولید متان منطقه‌ای به نظر می‌رسد [۴۸].

در ادامه نیز احتمالاً مونو آلیل فتالات با حذف دیگر شاخه‌ای آلیلی خود عمدتاً به فتالیک اسید و مقادیر بسیار کمتری از متیل بنزوات و آلیل بنزوات تبدیل می‌شود.

از سوی دیگر مونو متیل مونو آلیل فتالات به ترتیب با حذف یک و دو گروه متیل دیگر خود به دی اتیل فتالات و سپس به فتالیک اسید تبدیل می‌شود.



شکل ۵- محصولات جانبی تولید شده اصلی در فرآیند تجزیه بیولوژیک (DEP)

همچنین در تجزیه‌ی DAP و DEP بالاترین غلظت متابولیت مشاهده شده به ترتیب شامل مونو آلیل فتالات و مونو اتیل فتالات می‌باشند که هر دو در زمان ماند ۲ ساعت به حداکثر مقدار خود می‌رسند. علاوه بر ترکیبات نشان داده شده مقادیری از اتیلن و پروپیلن در حذف DAP، اتان و متیل ۴-هیدروکسی بنزوات در تجزیه DEP و هیمیناتور ترکیبات متان، متیل بنزوات، اتیل بنزوات، بنزوئیک اسید و ۲-هیدروکسی موکونیک سمی آلدئید به طور مشترک در حذف هر دو ترکیب مشاهده شدند.

بحث

علی‌رغم اینکه شاخه‌های استری دی آلیل فتالات طولانی‌تر از شاخه‌های دی اتیل فتالات است و در نتیجه انتظار داریم تا برای شکسته شدن به انرژی کمتری احتیاج داشته باشند. در طول فازهای مختلف مطالعه نتایج نشان دادند که همواره راندمان حذف DEP بیشتر از DAP می‌باشد، ممکن است علت این امر به میزان انحلال پذیری بیشتر و ضریب اکتانول به آب پایین‌تر DEP نسبت به DAP باز گردد که منجر می‌شود تا DEP بیشتر از DAP دسترسی بیولوژیکی و انتشار داشته باشد، این مشاهده با مقایسه‌ی میزان تجزیه‌ی بیولوژیکی بیشتر Dibutyl phthalate (DBP) با زنجیره‌ی استری کوتاه در مقایسه با Dibutyl phthalate (DOP) با زنجیره‌ی بلندتر مشابهت دارد [۴۲].

علت اختلاف قابل توجه مشاهده شده بین راندمان حذف استرهای مورد مطالعه با COD و TOC تا زمان ماند ۳ ساعت احتمالاً به مسیر حذف بیولوژیکی این ترکیبات مرتبط است زیرا در ابتدای فرآیند تنها منبع کربن موجود استرهای مورد مطالعه می‌باشند که پس از شکستن DAP به مونو آلیل فتالات

افزایش راندمان حذف COD، TOC و دو استر مورد مطالعه می‌تواند به افزایش جرم بیوفیلم به موازات افزایش زمان ماند و کاهش بار هیدرولیکی و نتیجتاً شسته شدن کمتر جرم میکروبی و یا فراهم شدن فرصت بیشتر برای عملکرد آنزیم‌های ترشح شده میکروبی مرتبط باشد.

بیشتر بودن راندمان حذف TOC در تجزیه بیولوژیکی DAP نسبت به DEP تا زمان ماند ۳ ساعت نیز می‌تواند به علت جدا شدن تعداد بیشتر کربن آلی با تولید پروپیلن در زمان حذف دی آلیل فتالات نسبت به تولید اتان در زمان حذف دی اتیل فتالات توجیه شود.

نتیجه گیری

مسیر حذف بیولوژیکی اصلی DAP و DEP حذف شاخه‌ی استری بوده و مسیر حذف گروه متیلن تاثیر کمتری دارد. مهم ترین متابولیت‌های مشترک مشاهده شده در مسیر تجزیه هر دو استر مورد مطالعه شامل دی متیل فتالات، مونو متیل فتالات، فتالیک اسید، کاتکول و ۲-هیدروکسی موکونیک سمی آلدهید می‌باشد. با توجه به شکسته شدن حلقه‌ی بنزنی و خطی شدن آن در انتهای مسیر تجزیه که متعاقباً منجر به ایجاد محصولات پایانی بی خطر می‌شود. تجزیه ی بیولوژیکی این ترکیبات می‌تواند به عنوان روشی مناسب برای حذف DAP و DEP و همینطور کاهش COD و TOC آن‌ها مطرح باشد.

اسید فتالیک نیز احتمالاً به واسطه‌ی تبدیل گروه‌های اسید کربوکسیلیک خود به دی اکسید کربن، عمدتاً به کاتکول (Catechol) و به مقادیر ناچیزتر به اسید بنزوئیک و ۲-هیدروکسی بنزوئیک اسید تبدیل می‌شود. تشکیل کاتکول در مطالعات قبلی از تجزیه بیولوژیکی فنل و بنزن مشاهده و گزارش شده است [۴۹]. در نهایت با اتصال احتمالی یک کربن بر روی گروه هیدروکسی متصل به حلقه ی بنزنی، پیوند دو گانه ی C=C شکسته شده که به موجب آن ترکیب خطی شده ۲-هیدروکسی موکونیک سمی آلدهید تشکیل می‌شود. دی اتیل فتالات نیز با مسیری نسبتاً مشابه با دی آلیل فتالات تجزیه می‌شود و عمدتاً توسط حذف شاخه‌ی استری به مونو اتیل فتالات (تولید اتان) و سپس به فتالیک اسید تبدیل می‌گردد تا در نهایت شبیه به ادامه ی مسیر تجزیه دی آلیل فتالات، فتالیک اسید به کاتکول و نهایتاً به ۲-هیدروکسی موکونیک سمی آلدهید تجزیه شود. متیل ۴-هیدروکسی بنزوآت، متیل بنزوآت و اتیل بنزوآت نیز در غلظت‌های پایین تر مشاهده شدند که احتمالاً از تجزیه ی مونو اتیل فتالات به وجود آمده‌اند و پس از تبدیل احتمالی به اسید بنزوئیک و در ادامه به کاتکول چرخه ی تجزیه ی آنها کامل می‌شود. مسیر دیگر تجزیه حذف گروه متیل بوده که با تبدیل مونو اتیل مونو متیل فتالات به دی متیل فتالات و مونو متیل فتالات و نهایتاً تبدیل این دو ترکیب به فتالیک اسید مسیر تجزیه ادامه می‌یابد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل از پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد دانشگاه علوم پزشکی تهران می‌باشد و با حمایت مالی مرکز تحقیقات کیفیت آب پژوهشکده محیط زیست دانشگاه علوم پزشکی تهران تحت طرح پژوهشی با کد ۹۲-۰۱-۴۶-۲۰۹۹۸ به انجام رسیده است. بدین وسیله نویسندگان این مقاله از این مرکز به منظور مساعدت در انجام این پژوهش تشکر می‌نمایند.

REFERENCES

1. Ma Y, Huang M, Wan J, Wang Y, Sun X, Zhang H. Prediction model of DnBP degradation based on BP neural network in AAO system. *International Journal of Bioresource Technology* 2011;102(6):4410-15.
2. Xu P, Zeng GM, Huang DL, Feng CL, Hu S, Zhao MH, et al. Use of iron oxide nanomaterials in wastewater treatment: A review. *Journal of Science of The Total Environment* 2012; 424: 1-10.
3. Oller I, Malato S, Sánchez-Pérez JA. Combination of Advanced Oxidation Processes and biological treatments for wastewater decontamination - A review. *Journal of Science of The Total Environment* 2011; 409 (20):4141-66.
4. Méndez-Díaz JD, Abdel Daiem MM, Rivera-Utrilla J, Sánchez-Polo M, Bautista-Toledo I. Adsorption/bioadsorption of phthalic acid, an organic micropollutant present in landfill leachates, on activated carbons. *Journal of Colloid and Interface Science* 2012; 369(1): 358-65.
5. Julinová M, Slavík R. Removal of phthalates from aqueous solution by different adsorbents: A short review. *Journal of Environmental Management* 2012; 94(1): 13-24.
6. Erythropel HC, Maric M, Cooper DG. Designing green plasticizers: Influence of molecular geometry on biodegradation and plasticization properties. *Journal of Chemosphere* 2012; 86(8): 759-66.
7. Kastner J, Cooper DG, Marić M, Dodd P, Yargeau V. Aqueous leaching of di-2-ethylhexyl phthalate and "green" plasticizers from poly(vinyl chloride). *Journal of The Total Environment* 2012; 432: 357-64.
8. Roslev P, Vorkamp K, Aarup J, Frederiksen K, Nielsen PH. Degradation of phthalate esters in an activated sludge wastewater treatment plant. *International Journal of Water Research* 2007; 41(5): 969-76.
9. Oliver R, May E, Williams J. Microcosm investigations of phthalate behaviour in sewage treatment biofilms. *Journal of Science of The Total Environment* 2007; 372(2-3): 605-14.
10. Deblonde T, Cossu-Leguille C, Hartemann P. Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2011; 214(6): 442-8.
11. Abdel Daiem MM, Rivera-Utrilla J, Ocampo-Pérez R, Méndez-Díaz JD, Sánchez-Polo M. Environmental impact of phthalic acid esters and their removal from water and sediments by different technologies - A review. *Journal of Environmental Management* 2012; 109(0):164-78.
12. Wen G, Ma J, Liu Z-Q, Zhao L. Oxidative degradation of organic pollutants in aqueous solution using zero valent copper under aerobic atmosphere condition. *Journal of Hazardous Materials* 2011;195: 371-7.
13. Heudorf U, Mersch-Sundermann V, Angerer J. Phthalates: Toxicology and exposure. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2007; 210(5): 623.
14. Zhao R-S, Wang X, Yuan J-P, Lin J-M. Investigation of feasibility of bamboo charcoal as solid-phase extraction adsorbent for the enrichment and determination of four phthalate esters in environmental water samples. *Journal of Chromatography A* 2008;1183(1-2):15-20.
15. Clara M, Windhofer G, Hartl W, Braun K, Simon M, Gans O, et al. Occurrence of phthalates in surface runoff, untreated and treated wastewater and fate during wastewater treatment. *Journal of Chemosphere* 2010;78(9):1078-84.
16. Chaler R, Cantón L, Vaquero M, Grimalt JO. Identification and quantification of n-octyl esters of alkanolic and hexanedioic acids and phthalates as urban wastewater markers in biota and sediments from estuarine areas. *Journal of Chromatography A* 2004; 1046(1-2): 203-10.

17. Wu Q, Liu H, Ye L-S, Li P, Wang Y-H. Biodegradation of Di-n-butyl phthalate esters by *Bacillus* sp. SASHJ under simulated shallow aquifer condition. *International Biodeterioration & Biodegradation journal* 2013;76(0):102-7.
18. Chen J-A, Liu H, Qiu Z, Shu W. Analysis of di-n-butyl phthalate and other organic pollutants in chongqing women undergoing parturition. *Journal of Environmental Pollution* 2008; 156(3): 849-53.
19. Brar SK, Verma M, Tyagi RD, Valéro JR, Surampalli RY. Concurrent degradation of dimethyl phthalate (DMP) during production of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides. *Journal of Hazardous Materials* 2009;171(1-3):1016-23.
20. Zheng Z, Zhang H, He P-J, Shao L-M, Chen Y, Pang L. Co-removal of phthalic acid esters with dissolved organic matter from landfill leachate by coagulation and flocculation process. *Journal of Chemosphere* 2009;75(2):180-6.
21. Nakamiya K, Hashimoto S, Ito H, Edmonds JS, Yasuhara A, Morita M. Microbial treatment of bis (2-ethylhexyl) phthalate in polyvinyl chloride with isolated bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 2005; 99(2):115-9.
22. Chang BV, Liao CS, Yuan SY. Anaerobic degradation of diethyl phthalate, di-n-butyl phthalate, and di-(2-ethylhexyl) phthalate from river sediment in Taiwan. *Journal of Chemosphere* 2005; 58(11): 1601-7.
23. Ayranci E, Bayram E. Adsorption of phthalic acid and its esters onto high-area activated carbon-cloth studied by in situ UV-spectroscopy. *Journal of Hazardous Materials* 2005; 122(1-2): 147-53.
24. Cases V, Alonso V, Argandoña V, Rodriguez M, Prats D. Endocrine disrupting compounds: A comparison of removal between conventional activated sludge and membrane bioreactors. *Journal of Desalination* 2011; 272(1-3): 240-5.
25. Fang C-R, Long Y-Y, Shen D-S. Comparison on the removal of phthalic acid diesters in a bioreactor landfill and a conventional landfill. *International Journal of Bioresource Technology* 2009; 100(23): 5664-70.
26. Liao C-S, Chen L-C, Chen B-S, Lin S-H. Bioremediation of endocrine disruptor di-n-butyl phthalate ester by *Deinococcus radiodurans* and *Pseudomonas stutzeri*. *Journal of Chemosphere* 2010; 78(3): 342-6.
27. Wu D, Mahmood Q, Wu L, Zheng P. Activated sludge-mediated biodegradation of dimethyl phthalate under fermentative conditions. *Journal of Environmental Sciences* 2008; 20(8): 922-6.
28. Gibson RW, Wang M-J, Padgett E, Lopez-Real JM, Beck AJ. Impact of drying and composting procedures on the concentrations of 4-nonylphenols, di-(2-ethylhexyl) phthalate and polychlorinated biphenyls in anaerobically digested sewage sludge. *Journal of Chemosphere* 2007; 68(7): 1352-8.
29. Sun K, Jin J, Keiluweit M, Kleber M, Wang Z, Pan Z, et al. Polar and aliphatic domains regulate sorption of phthalic acid esters (PAEs) to biochars. *International Journal of Bioresource Technology*. 2012; 118(0): 120-7.
30. Fang C-R, Long Y-Y, Wang W, Feng H-J, Shen D-S. Behavior of dibutyl phthalate in a simulated landfill bioreactor. *Journal of Hazardous Materials* 2009; 167(1-3): 186-92.
31. Fang C-R, Yao J, Zheng Y-G, Jiang C-J, Hu L-F, Wu Y-Y, et al. Dibutyl phthalate degradation by *Enterobacter* sp. T5 isolated from municipal solid waste in landfill bioreactor. *International Biodeterioration & Biodegradation journal* 2010; 64(6): 442-6.
32. Tümay Özer E, Osman B, Kara A, Beşirli N, Gücer Ş, Sözeri H. Removal of diethyl phthalate from aqueous phase using magnetic poly (EGDMA-VP) beads. *Journal of Hazardous Materials* 2012; 229-230:20-28

33. Jianlong W, Lujun C, Hanchang S, Yi Q. Microbial degradation of phthalic acid esters under anaerobic digestion of sludge. *Journal of Chemosphere* 2000;41(8):1245-8.
34. Shrestha A. Specific moving bed biofilm reactor in nutrient removal from municipal wastewater [dissertation]. Faculty of Engineering and Information Technology: University of Technology, Sydney, 2013
35. Kishida N, Kim J, Tsuneda S, Sudo R. Anaerobic/oxic/anoxic granular sludge process as an effective nutrient removal process utilizing denitrifying polyphosphate-accumulating organisms. *International Journal of Water Research* 2006; 40(12): 2303-2310.
36. Gao D, Li Z, Wen Z, Ren N. Occurrence and fate of phthalate esters in full-scale domestic wastewater treatment plants and their impact on receiving waters along the Songhua River in China. *Journal of Chemosphere* 2014; 24-32; 95
37. Navacharoen A, Vangnai AS. Biodegradation of diethyl phthalate by an organic-solvent-tolerant *Bacillus subtilis* strain 3C3 and effect of phthalate ester coexistence. *International Biodeterioration & Biodegradation journal* 2011; 65(6): 818-26.
38. AWWA. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, DC; 1998.
39. APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater. Public Health Association, Washington, DC; 2005.
40. Zeng P, Zhuang W-Q, Tay ST-L, Tay J-H. The influence of storage on the morphology and physiology of phthalic acid-degrading aerobic granules. *Journal of Chemosphere* 2007; 69(11): 1751-7.
41. Zheng Z, Zhang H, He P-J, Shao L-M, Chen Y, Pang L. Co-removal of phthalic acid esters with dissolved organic matter from landfill leachate by coagulation and flocculation process. *Journal of Chemosphere* 2009;75(2):180-6
42. Gavala HN, Alatraste-Mondragon F, Iranpour R, Ahring BK. Biodegradation of phthalate esters during the mesophilic anaerobic digestion of sludge. *Journal of Chemosphere* 2003; 52(4): 673-82.
43. Amir S, Hafidi M, Merlina G, Hamdi H, Jouraiphy A, El Gharous M, et al. Fate of phthalic acid esters during composting of both lagooning and activated sludges. *Journal of Process Biochemistry* 2005; 40(6): 2183-90.
44. Chan YJ, Chong MF, Law CL, Hassell DG. A review on anaerobic-aerobic treatment of industrial and municipal wastewater. *Chemical Engineering Journal* 2009;155(1-2):1-18.
45. Kamat SS, Williams HJ, Dangott LJ, Chakrabarti M, Raushel FM. The catalytic mechanism for aerobic formation of methane by bacteria. *Journal of Nature* 2013; 497(7447):132-6.
46. Damm E, Helmke E, Thoms S, Schauer U, Nöthig E, Bakker K, et al. Methane production in aerobic oligotrophic surface water in the central Arctic Ocean. *Journal of Biogeosciences Discussions* 2009; 6(6):10355-79.
47. Karl DM, Beversdorf L, Björkman KM, Church MJ, Martinez A, Delong EF. Aerobic production of methane in the sea. *Journal of Nature Geoscience* 2008;1(7):473-8.
48. Canziani R, Emondi V, Garavaglia M, Malpei F, Pasinetti E, Buttiglieri G. Effect of oxygen concentration on biological nitrification and microbial kinetics in a cross-flow membrane bioreactor (MBR) and moving-bed biofilm reactor (MBBR) treating old landfill leachate. *Journal of Membrane Science* 2006; 286(1-2):202-12.
49. Reardon KF, Mosteller DC, Bull Rogers JD. Biodegradation kinetics of benzene, toluene, and phenol as single and mixed substrates for *Pseudomonas putida* F 1. *Journal of Biotechnology and Bioengineering* 2000; 69 (4): 385-400.

Evaluation of Diethyl phthalate and Diallyl phthalate biodegradation mechanisms in the treatment of synthetic wastewater

Ehsan Ahmadi^{1,2}, Mitra Gholami^{3*}, Mahdi Farzadkia³, Ramin Nabizadeh⁴, Ali Esrafil⁵, Ali Azari²

1. Center for Water Quality Research (CWQR), Institute for Environmental Research (IER), Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2. MSc student of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3. Associate Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

4. Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

5. Assistant Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

ABSTRACT

Background and Aims: Over the last few years, Phthalic Acid Esters (PAEs) have attracted a widespread attention due to their widespread production and use. These compounds are not only linked to endocrine disruption and cancer but also considered as emerging and hazardous pollutants. Large amounts of PAEs have been detected in industrial wastewaters. Given the widespread use of biological processes in industrial wastewater treatment, this study aimed to identify biodegradation pathways of PAEs and their potential metabolites.

Materials and Methods: Two short-chain esters from phthalic acid esters including diethyl phthalate (DEP) and diallyl phthalate (DAP) were selected in the present study. We used the survey of metabolites in a moving bed biofilm reactor effluent to determine biodegradation pathways of designated esters at hydraulic retention times of 1 to 12 hours. Influent concentration of 100 mg/l was also considered throughout the study.

Results: Phthalic acid, mono-methyl phthalate, dimethyl phthalate and catechol were identified as the most noteworthy metabolites in biodegradation of both esters. The degradation pathway of both studied compounds was similar and involves either detachment of ester-chain or removal of methyl group, followed by few decomposition steps resulting in the production of benzene ring. The degradation can proceed further with ring cleavage and it ends with 2-hydroxy muconic semi-aldehyde.

Conclusion: The main route for removal of studied compounds was de-esterification followed by demethylation. According to identified degradation pathways and metabolites produced, biodegradation can be considered as a reliable treatment process for industrial wastewaters containing PAEs.

Key words: Biodegradation, Phthalic Acid Esters, Synthetic wastewater.

*Corresponding Author:

School of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran.

Tel: 021-88622706

Email: gholamim@iums.ac.ir

Received: 11 March 2014

Accepted: 18 June 2014