Bio-film developing procedure

By:
Amirreza Talaiekhozani: Faculty Member of Jami Institute of Technology ,
Department of Civil & Environmental Engineering,
E-mail: atalaie@jami.ac.ir

2011

اصول تولید بیوفیلم برای کاربرد در مصارف تحقیقاتی و صنعتی

امیر رضا طلایی خوزانی
عضو هیئت علمی گروه مهندسی عمران و محیط زیست موسسه آموزش عالی جامی

۱۳۹۰

۱- مقدمه

امروزه علم بیوتکنولوژی به عنوان یکی از علوم میان رشته ای از طرف داران زیادی برخودار شده است. استفاده از موجودات زنده میکروسکوپی برای تولید، حذف و یا تبدیل مواد شیمیایی به یکدیگر روشی سازگار با محیط زیست بوده و با وجود پیچیدگی های فراوان در راهبری نیاز به سرمایه گذاری اولیه کمتری نسبت به برخی از روشهای شیمیایی و یا فیزیکی دیگر دارد. این امر باعث شده محققین زیادی به بررسی امکان پذیری استفاده از روشهای بیولوژیکی در صنایع مختلف روی بیاورند.

برای به کارگیری واکنشهای مختلف شیمیایی و یا بیولوژیک در صنعت، نیاز به محفظه ای است که به عنوان محل واکنش مورد استفاده قرار گیرد. این محفظه را راکتور یا واکنش گاه می نامند. راکتورها می توانند به منظور انجام واکنش های شیمیایی (همچون راکتورهای هسته ای یا شیمیایی) و واکنش های بیولوژیک (راکتورهای بیولوژیک یا بیوراکتور) مورد استفاده قرار گیرند. در فرایندهای بیوتکنولوژی استفاده از بیوراکتورها بسیار لازم بوده و طراحی آنها نیازمند رعایت اصولی خاص می باشد [۱]. بسیاری از محققین در هنگام انجام مطالعات علمی خود با استفاده از نتایج آزمایشات خود نسبت به مدل سازی ریاضی بیورکتورها اقدام می نمایند و معادلاتی را برای پیش بینی شرایط راکتور ارائه می دهند. استفاده از این مدل ها در طراحی راکتورها می تواند بسیار مفید باشد [۶]. قلب هر بیوراکتور، میکروارگانیسم های آن بیوراکتور می باشند. با توجه به نحوه به کارگیری میکروارگانیسم ها در بیوراکتورها، آنها را به سه دسته بیوراکتورهایی با رشد چسبیده، بیورکتورهایی با رشد معلق و بیوراکتورهای تلفیقی تقسیم بندی می نمایند [۱۱]. در این بین استفاده از بیوراکتورهای رشد چسبیده نیازمند ایجاد توده زیستی بر روی سطح داخلی راکتور می باشد. در بسیاری از مطالعات مختلف بر روی بیوراکتورهایی با رشد چسبیده تولید بیوفیلم به عنوان اولین قدم محسوب می گردد. درصورت عدم اطلاع دقیق از شرایط تولید بیوفیلم، تولید آن می تواند برای محققین دردسر ساز بوده و یا وقت زیادی را از آنها بگیرد. رعایت اصولی ساده در هنگام تولید بیوفیلم می تواند سرعت رشد آن را افزایش دهد. در این مبحث به ارائه اصولی ساده درباره توسعه بیوفیلم در راکتورهای بیولوژیکی پرداخته می شود.

۲- بیوفیلم

میکروارگانیسم ها می توانند در اثر عوامل مختلف به دور یکدیگر جمع شده و تشکیل توده زیستی (Biomass) را دهند. اگر این توده زیستی به سطحی بچسبد و ایجاد یک لایه لزج نماید، آن را بیوفیلم (Bio-film) یا همان لایه زیستی می نامند و اگر این توده در محیط مایع معلق گردد آن را توده زیستی معلق می خوانند. در سیستم های بیولوژیکی که در آنها از میکروارگانیسم ها برای انجام فرایندهای مختلف صنعتی و آزمایشگاهی استفاده می شود از توده زیستی معلق و هم از بیوفیلم استفاده می گردد. در برخی موارد نیز از ترکیب هر دو در راکتور های بیولوژیکی استفاده می شود که در این حالت راکتور را راکتور ترکیبی (Hybrid reactor) می نامند [۱۱]. در علم مهندسی بیوتکنولوژی از هر دو نوع توده بیولوژیک به منظور مقاصد مختلف استفاده می گردد. سیستم های تصفیه فاضلاب با کمک بیوفیلم برای تصفیه بیولوژیکی فاضلابهای بسیار آلوده همچون فاضلاب های صنایع که بعضاً حاوی مواد سمی نیز هستند مفید است. میکروارگانیسزم ها در بیوفیلم ها می توانند برای مدت زمان زیادی باقی مانده در نتیجه با گذشت زمان نسبت به مواد سمی موجود در فاضلاب مقاوم تر شده و توانایی مصرف و تجزیه مواد سمی را پیدا می نمایند. در راکتورهای بیولوژیکی که از توده بیولوژیکی معلق استفاده می نمایند زمان ماند سلولی میکروارگانیسم ها در سیستم کم بوده لذا توانایی این راکتور ها در سازگاری با مواد سمی موجود در فاضلاب های صنعتی کمتر است. به

همین دلیل امروزه استفاده از سیستم های بیوفیلمی جهت تصفیه مواد سمی بسیار مورد علاقه مهندسین محیط زیست و محققان فعال در صنعت بیوتکنولوژی محیط زیست قرار گرفته است.
میکروارگانیسم ها در بیوفیلم ها رشد می کنند و باعث افزایش ضخامت بیوفیلم می گردند. این افزایش ضخامت می تواند منجر به این گردد که مواد غذایی و یا اکسیژن به عمق بیوفیلم نرسیده در نتیجه میکروارگانیسم ها در بخشهای زیرین خواهند مُرد و یا ضعیف می گردند. با توجه به اینکه میکروارگانیسم های موجود در لایه های زیرین مسئول چسباندن بیوفیلم ها به سطوح موجود در راکتورهای بیولوژیکی هستند لذا مرگ و یا ضعف آنها می تواند منجر به کنده شدن لایه های زیستی از سطوح گردد. بلافاصله پس از کنده شدن بیوفیلم از سطح مورد نظر میکروارگانیسم های جدید جایگزین بیوفیلم کنده شده می گردند و بیوفیلم جدیدی در آن بخش از راکتور مجدداً رشد خواهد نمود. در هر راکتور بیولوژیکی بطور مداوم بخشی از بیوفیلم ها در حال ریختن و بخشی دیگری از آنها در حال رشد مجدد در راکتور هستند [۱۱]. لذا درصورت ثابت بودن شرایط راکتور (دما، pH، غلظت اکسیژن محیط، غلظت مواد غذایی و...) وزن بیوفیلم ها در راکتور ثابت خواهد ماند. لازم به ذکر است که خارج نمودن بیوفیلم های کنده شده از راکتور بسیار مهم می باشد و در صورت عدم خروج آنها در راکتور گرفتگی ایجاد خواهد شد و یا انباشت مقدار زیادی توده بیولوژیکی منجر به ایجاد حالت بی هوازی در راکتور و نهایتاً تولید بو و اختلال در کار راکتور خواهد شد.

۳- تولید محیط کشت مناسب

در انجام تحقیقات علمی بر روی راکتورها رشد چسبیده (بیوفیلمی) اولین گام تولید بیوفیلم مناسب می باشد. برای تولید بیوفیلم باید به نکات زیر توجه ویژه داشت. در غیر این صورت تولید بیوفیلم بسیار دیر حادث شده و یا اصلاً بیوفیلمی ایجاد نخواهد شد. میکروارگانیسم ها برای رشد خود نیازمند سه منبع اصلی کربن، نیتروژن و فسفر می باشند. همچنین در کنار این مواد، منابع فرعی همچون کلسیم، منیزیم، سدیم، پتاسیم، آهن و... نیز برای رشد میکروارگانیسم ها مورد نیاز خواهد بود [۱-۵]. لذا در اولین گام باید محیطی حاوی اینگونه مواد برای میکروارگانیسم ها فراهم نمود تا آنها امکان ادامه حیات، تولید مثل و نهایتاً چسبیدن به سطوح مورد نظر و تولید بیوفیلم را داشته باشند. برای تامین منابع اصلی و فرعی جهت رشد میکروارگانیسم ها می توان از مواد طبیعی (همچون پودر ماهی) و یا مواد مصنوعی (همچون ایجاد ترکیبی از مواد شیمیایی) استفاده نمود. بطور معمول استفاده از مواد طبیعی منجر به در اختیار قرار دادن همه منابع اصلی و فرعی به میکروارگانیسم ها می گردد [۱]. ولی در تولید محیط های مصنوعی باید مواد مختلف شیمیایی که دارای ترکیبات مورد نظر بوده و قابلیت انحلال مناسب در آب را نیز داشته باشند استفاده نمود. بطور مثال می توان برای ایجاد منبع نیتروژن و سدیم در محیط از نیترات سدیم استفاده نمود و برای ایجاد منبع فسفر و پتاسیم از فسفات پتاسیم بهره جست [۱]. لازم به ذکر است که یک محیط کشت ایده آل باید حاوی نسبت کربن/نیتروژن/فسفر برابر با ۱/۵/۱۰۰ باشد. برای ایجاد این نسبت در کاربرد مواد شیمیایی جهت تولید منابع مختلف می توان از محاسبات ساده شیمیایی استفاده نمود ولی تنظیم این نسبت در مواد طبیعی عملاً امکان پذیر نیست و یا بسیار دردسر زا است. با این حال این نسبت بطور تقریبی در مواد طبیعی رعایت شده است و نیازی به تغییر در آن نیست. با جستجوی ساده در مقالات موجود به راحتی می توان به فرمولاسیون های مورد نیاز برای ساخت محیط کشت مناسب دسترسی یافت. نمونه ای از این فرمولاسیون را می توانید در جدول شماره ۱ مشاهده نمایید. این فرمولاسیون فاقد منبع کربن بوده و محقق باید با توجه به هدف مطالعه یک نوع منبع کربن را انتخاب نماید. بطور معمول منابع کربنی که برای توسعه سریع بیوفیلم مورد نیاز می باشد باید برای میکروارگانیسم ها بسیار سهل الوصل باشد. به عنوان مثال می توان از منابع کربن شیمیایی همچون متانل، اتانل، گلوکز، اتیلن گلیکول و یا منابع کربن طبیعی همچون شکر و فاضلاب شهری

استفاده نمود. لازم به ذکر است که پس از توسعه کافی بیوفیلم می توان به تدریج منبع کربن سهل الوصول را قطع نمود و منابع کربن مورد نظر را افزایش غلظت داد تا میکروارگانیسم ها به تدریج نسبت به زندگی در جاورت آنها و نهایتاً مصرف این گونه مواد سازگار شده توانایی های لازم برای انجام واکنشهای بیولوژیک مورد نظر را بیابد [۷، ۸، ۹].

جدول شماره ۱: نمونه از محیطهای کشت شیمیایی جهت افزایش تعداد میکروارگانیسم ها [۵]

نوع ماده شیمیایی	مقدار
$MgSO_4$	$0.1\,gr/l$
KH_2PO_4	$0.5\,gr/l$
$CaCl_2.2H_2O$	$0.01\,gr/l$
$FeSO_4$	$0.001\,gr/l$
NH_4Cl	$1\,gr/l$
K_2HPO_4	$0.5\ gr/l$
$MnSO_4$	$0.001\,gr/l$

در امور تحقیقاتی به منظور دانستن دقیق کلیه مواد موجود در محیط کشت از آب مقطر برای تولید محیط کشت استفاده می گردد. لیکن در بخش توسعه بیوفیلم که نیازی به معلوم بودن تمامی مواد شیمیایی موجود در محیط کشت نیست استفاده از آب آشامیدنی که بعضاً حاوی بسیاری از املاح ضروری رشد میکروارگانیسمها در مقادیر بسیار اندک می باشد، می تواند برای تقویت محیط کشت و رشد میکروارگانیسم ها مفید باشد.

٤- انتخاب بستر مناسب رشد میکروارگانیسم ها

پس از تولید محیط کشت مناسب نوبت به انتخاب بستر مناسب برای رشد میکروارگانیسم ها می رسد. بطور معمول هرچه بستر مورد نظر شما متخلخل تر باشد و سطح زیادتری ایجاد کند بستر مناسب تری برای رشد میکروارگانیسم ها بر روی آن خواهد بود [۱۱]. لیکن باید توجه داشت که فقط فاکتور بالا بودن سطح به عنوان یک شاخص برای انتخاب بستر مناسب نیست. یک بستر مناسب علاوه بر زیاد بودن سطح آن دارای منافذ درشت نیز هست که این عمل ایجاد گرفتگی در بستر به دلیل رشد بالای میکروارگانیسم ها در اثر ایجاد بیوفیلم های ضخیم را به حداقل خود می رساند. شاخص این منافذ را تخلخل می نامند. همچنین وزن بستر ها نیز در اینجا بسیار مهم است. بسترهای سنگین همچون قلوه سنگ نیازمند راکتوری بسیار محکم برای نگهداری حجم بالایی از آن می باشد. لذا در صورت سنگین بودن بستر استفاده از آن باعث افزایش هزینه ساخت راکتورها خواهد شد و در مقیاس های صنعتی نیز نمی توان از آنها برای پر نمودن راکتورهایی با ارتفاع زیاد استفاده نمود. امروزه استفاده از قطعات متخلخل پلاستیکی بدین منظور بسیار مرسوم شده است. زیرا این گونه بسترها علاوه بر داشتن سطح زیاد، تخلخل بالا و قطر سوراخهای مناسب، سبک نیز هستند. در ایران امروزه استفاده از لوله خرطومی که در تاسیسات برق رسانی مورد استفاده قرار می گیرد، به عنوان بستر رشد میکروارگانیسم ها در بیوراکتور ها و در امور تحقیقاتی مورد توجه قرار گرفته است. این بستر علاوه بر سطح زیاد سبک بوده و درصد تخلخلی برابر با ۹۰٪ را ایجاد می نماید. همچنین قطر بالای سوراخهای موجود در در این بستر که ناشی از تخلخل بالای آن می باشد، امکان گرفتگی در آن را بسیار کاهش می دهد. بسترهای پلاستیکی دیگری نیز توسط

شرکتهای متخلف در سطح دنیا تولید می گردد که دارای سطح ویژه بسیار بالایی بوده لیکن هزینه خرید و استفاده از آنها نیز بالا می باشد. لازم به ذکر است که یکی دیگرا از شاخص های یک بستر ایده آل در دسترس بودن و قیمت مناسب نیز می باشد.

یکی از فاکتورهایی که در انتخاب بستر مورد توجه قرار می گیرد مقدار صیقلی بودن بستر می باشد. در هر دو نوع بستر کاملاً صیغلی و کاملاً زبر بیوفیلم قابل تشکیل می باشد. لیکن در بسترهایی که زبری کمتری دارند تشکیل بیوفیلم معمولاً با تاخیری اندک نسبت به بسترهای زبرتر قابل انجام می باشد. در بسیاری از تحقیقات قبلی، محققین نشان داده اند که حتی بر روی بستری از لوله های شیشه ای نیز براحتی بیوفیلم قابل تشکیل است. لذا این فاکتور در انتخاب بستر مناسب چندان مورد توجه قرار نمی گیرد.

۵- انتخاب منبع میکروارگانیسم جهت تلقیح به بیوراکتور

پس از انتخاب بستر مناسب باید منبع میکروارگانیسم خود را بیابید. در این مرحله با توجه به هدف از ایجاد بیوفیلم از میکروارگانیسم های مختلف استفاده می گردد. اگر هدف از ایجاد بیوفیلم سازگارسازی آن به مصرف مواد سمی خواص باشد شما می توانید از لجن فعال برگشتی ناشی از تصفیه خانه های فاضلاب شهری استفاده نمایید [۱، ۱۰]. این منبع میکروبی حاوی هزاران گونه میکروبی بوده و تنوع بالایی دارد. لذا احتمال وجود میکروارگانیسم های مناسب برای هدف شما در این نوع منبع بسیار زیاد است. علاوه بر لجن فعال شما می توانید از منابع زیر نیز به منظور بذر پاشی محیط کشت استفاده نمایید: فاضلاب خانگی، لجن های موجود در خطوط جمع آوری و تصفیه خانه های فاضلاب صنعتی، شیرابه زباله، لجن فعال حاصل از راکتورهای تحقیقاتی در مقیاس آزمایشگاهی، میکروارگانیسم های خالص موجود در بانکهای میکروارگانیسم و...

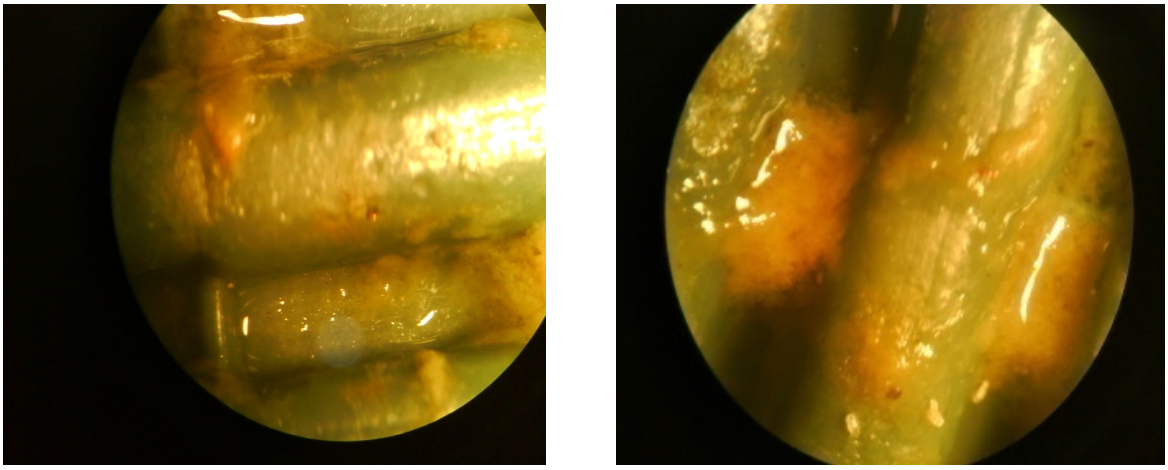
٦- تولید بیوفیلم

پس از تولید محیط کشت، انتخاب منبع کربن، نوع بستر و نهایتاً منبع میکروبی مناسب نوبت به شروع فرایند تولید بیوفیلم می رسد. دو استراتژی را می توانید برای راهبری بیوراکتور خود در نظر بگیرید. در اولین حالت راکتور با محیط کشت پر شده و بستر در داخل محیط کشت به صورت غوطه ور و یا ثابت قرار داده می شود. در این حالت سرعت رشد بیوفیلم پایین خواهد بود. زیرا میکروارگانیسم ها در حالت معلق به دلیل امکان حرکت به تمام بخشهای راکتور در اثر اغتشاشات ناشی از هوادهی در محیط کشت نیازی به چسبیدن به بستر را ندارند. لذا سرعت ایجاد بیوفیلم در محیطهایی اینچنینی پایین می باشد. با این حال در برخی موارد مانند تولید بیوفیلم برای کاربرد در راکتورهای بی هوازی هیچ انتخاب دیگری وجود ندارد.

در دومین حالت می توان راکتور را به صورت یک صافی چکنده به کار گرفت. یعنی محیط کشت از بالا به روی بستر پاشیده می شود و نهایتاً محیط کشت از پایین بیوراکتور خارج خواهد شد. به این ترتیب میکروارگانیسم ها برای ماند در محیطی پر از مواد غذایی که بطور مداوم از بالا توسط محیط کشت تازه تغذیه می گردد تمایل به چسبیدن بر روی بستر را دارند. لذا سرعت رشد بیوفیلم در این حالت از حالت اول بیشتر است. لذا توصیه می گردد درصورت امکان از روش دوم استفاده شده و پس از توسعه کافی بیوفیلم از آنها در شرایط مورد نظر خود استفاده کنید.

برای شروع تولید بیوفیلم باید چند روزی منبع میکروارگانیسم در سیستمی بسته در تماس مداوم با مقدار مناسبی از منبع میکروبی قرار گیرد. لازم به ذکر است که پس از گذشت چند روز اول، بیوفیلم تشکیل خواهد شد لیکن این بیوفیلم بسیار نازک بوده و با چشم غیر مسلح امکان دیدن آن وجود ندارد. همچنین این بیوفیلم برای مصارف تحقیقاتی

و صنعتی مناسب نیست و باید با تیمار مناسب آن برای مدت زمان یک هفته تا دو ماه به میزان کافی توسعه داد. با این حال توصیه می شود منبع میکروبی با بیوفیلم برای مدت زمان حداقل یک هفته در یک سیستم بسته حفظ گردد و پس از این مدت زمان می توان منبع میکروارگانیسم های معلق را از سیستم خارج نمود و فقط محیط کشت را در سیستم به جای گذاشت. لازم به ذکر است که در طول راهبری بیوراکتور برای تولید بیوفیلم باید به این نکته توجه نمود که مقدار میکروارگایسم های معلق در محیط کشت با مقدار بیوفیلم تشکیل شده نسبت عکس دارد [۱۱]. لذا توصیه می گردد پس از گذشت مدت زمان یک هفته ای تماس میکروارگانیسم با بستر، میکروارگانیسم معلق از محیط کشت جدا گردند. برای ایجاد سریع بیوفیلم استفاده از منبع کربن با غلظت بالا توصیه می گردد. همچنین درصورت راهبری راکتور در شرایط بسته سرعت شکل گیری بیوفیلم بسیار پایین خواهد بود. توصیه می گردد برای چسبیدن اولیه میکروارگانیسم ها به بستر ابتدا برای چند روز سیستم به صورت بسته به کار گرفته شود و سپس سیستم را به صورت غیر بسته (Continues) به کار ببندید. در سیستم های بسته مقدار منابع کربن، نیتروژن، فسفر، پتاسیم، سدیم و... در ابتدای شروع کشت بالا می باشد، لیکن با ادامه فعالیت و رشد میکروارگانیسم ها این منابع به سرعت مصرف شده و غلظت آنها کاهش می یابد که این امر منجر به کاهش شدید رشد میکروارگانیسم ها خواهد شد. همچنین در طول رشد میکروارگانیسم ها مواد سمی و مضر برای رشد آنها به محیط کشت اضافه می گردد که تغلیظ آنها در سیستم های بسته نیز می تواند منجر به کاهش رشد میکروارگانیسم ها و نهایتاً تولید بیوفیلم گردد. لیکن در سیستم های غیر بسته غلظت این مواد همواره ثابت بوده لذا میکروارگانیسم ها برای مدت زمان بیشتری در فاز رشد لگاریتمی باقی می مانند. این امر منجر به بالا رفتن سرعت رشد بیوفیلم در راکتور خواهد شد. مدت زمانی حدوداً یک ماه برای تولید بیوفیلم مورد نیاز است که اگر شرایط مناسب را برای رشد میکروارگانیسم ها مطابق دستورالعمل های فوق ایجاد نمایید این زمان تا چهارده روز می تواند کاهش یابد. اگر شما نیازمند سرعت عمل بیشتری هستید و هزینه ها نیز برای شما چندان اهمیت ندارد می توانید از محیطهای کشت میکروبی همچون مخلوطی از محیط کشت نوترینت براث (Nutrient Broth) و محیط کشت پپتون (Peptone) استفاده نمایید. با کاربرد این محیطهای کشت در یک راکتور غیر بسته و با به کار گیری حالت صافی چکنده بر روی بستر می توان ظرف مدت یک هفته بیوفیلم های باکتریایی و یا قارچی را تشکیل دهید. لازم به یاد آوری است که برای داشتن سرعت بالا در تولید بیوفیلم ها باید غلظت منابع اصلی و فرعی معدنی و خصوصاً غلظت منبع کربن بالا باشد. همچنین در سیستم های هوازی باید میزان هوادهی را طوری تنظیم کرد که مقدار اکسیژن محلول موجود در محیط کشت حداقل ۵ میلی گرم بر لیتر باشد. همچنین اختلاط کافی نیز در محیط وجود داشته باشد تا علاوه بر مواد مغذی اکسیژن کافی نیز به تمام بستر بیوراکتور برسد. در بیوراکتورهای بی هوازی نیز باید دقت نمود راکتور کاملاً هوابندی باشد، زیرا میکروارگانیسم های بی هوازی نسبت به حضور اکسیژن محلول در محیط کشت بسیار حساس بوده حضور اکسیژن می تواند سرعت رشد بیوفیلم بی هوازی در بیوراکتور بی هوازی را شدیداً کاهش دهد. نمونه هایی از بیوفیلمهای درحال توسعه و توسعه یافته در بیوراکتور هوازی بر روی بستری از لوله خرطومی در تصویرهای زیر قابل مشاهده می می باشد. این تصاویر با کمک لوپ آزمایشگاهی و بزرگنمایی ۴۰ برابر تهیه شده است.



شکل شماره ۱: تصاویر بیوفیلمهای در حال توسعه بر روی سطح بستر با بزرگنمایی ۴۰ برابر

لازم به ذکر است که در صورتی که بستر به صورت معلق در بیوراکتور به کار گرفته شود به دلیل برخورد سطح خارجی بسترها با یکدیگر امکان تولید بیوفیلم ضخیم قابل مشاهده بر روی آن وجون ندارد. لذا در این شرایط تولید بیوفیلم به سطوح داخلی بستر محدود خواهد شد. بطور معمول بیوفیلم های تولید شده در راکتورهایی با بستر معلق بسیار محکم تر به بستر چسبیده اند و به سادگی از آن جدا نمی شوند.

منابع:

1- Talaiekhozani. A., Parametric Study of Petroleum Compounds Biodegradation Using Microorganisms, M.Sc Thesis of: Environmental Engineering, Scince and Research University Branch-Ahvaz, 2008.

2- Jaafarzadeh Haghighi fard N., Talaiekhozani A., Talaiekhozani M.R., Jorfi S., Evaluation of ElectrochemicalTreatment in Degradation of Wastewater Contaminated by Propylene Glycol, Iran. J. Health & Environ., 2010, Vol. 2, N0. 4.

3- Jorfi. S., Yaghmaeian. K., Talaiekhozani. A., Mousavi. Gh., Rezaei Kalantary. K., Farzadkia. M., Optimization of propylene glycol removal in a fixed bed activated sludge bioreactor by Taguchi method, Journal of Koomesh, 2008, Vol. 11, No. 1, pp:15-26.

4- Lalevic, B., Raicevic, V., Kikovic, D., Jovanovic L., Surlan, G., Jovic, J., Talaiekhozani, A and Morina, F., Biodegradation of MTBE by Bacteria Isolated From Oil Hydrocarbons-Contaminated Environments, Int. J. Environ. Res., 5(4):827-832, Autumn 2011.

5- Talaiekhozani. A., M. R. Talaie, N. Jafaarzadeh, (2008) “Optimization biodegradation of floating diesel fuel in wastewater using the Taguchi method,” Journal of Water & Wastewater, Volume 20, No 3, pp: 57-68.

6- Talaie, M. R., N. Mokhtarian, A. Talaiekhozani and M. Karimibroojeni, (2009), "Experimental and theoretical investigation of droplet dispersion in Venturi scrubbers with axial liquid injection", Chemical Engineering & Technology Journal, 32(5), pp. 798–804.

7- Talaiekhozani, A., M. Beheshti and M. R. Talaie, (2010), "Evaluating efficiency of co-culture of two isolated Pseudomonas aeruginosa strains for removal of floating crude oil from oil-polluted wastewater", Journal of Desalination and Water Treatment, 28(2011)103-107.

8- Talaiekhozani, A., M. Beheshti and M. R. Talaie, (2010), "Screening and batch treatment of wastewater containing floating oil using oil-degrading bacteria", Journal of Desalination and Water Treatment, 28(2011)108-114.

9- Talaiekhozani A., N. Jafaarzadeh, M. R. Talaie and M. Beheshti, (2010) “Application of Pseudomonas Aeruginosa in Biodegradation of Aromatic Compounds in Floating Crude Oil,” Scientific Journal of Zanjan University Medical of Sciences, Volume 18, No. 70, pp:68-79.

10- Jonidi A., A. Talaiekhozani, S. Jorfi, and M. M. Mehrabani, (2009) “Investigation of formaldehyde degradation using isolated microorganisms from wastewater of chemical industries”, Iran occupational Health Journal, vol 5, Issues 1&2, pp: 47-53.

11- Farzadkia M., Rezaee R., Jorfi S., Talaiekhozani A., Moussavi G.R., (2009), "Biological Removal of Propylene Glycol from Wastewater and its Degradation in Soil by the Activated Sludge Consortia" , Iranian Journal of Health and Environment, *Vol. 2, N0. 1, PP: 56-64.*

This document was created with Win2PDF available at http://www.win2pdf.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.