

تعیین شرایط بهینه در تصفیه‌ی پساب حاوی مواد لبندی به روش افزایش زیست‌شناختی

مجله علمی دانشگاه صنعتی شریف
فروردین-اردیبهشت ۱۳۸۷، شماره چهل و یکم، ص. ۵۴-۶۵، (پادشاهی)

ویدا مقصودی (نماینده)

مرکز تحقیقات مهندسی بیوشی، دانشگاه صنعتی شریف

سهیلا یغمائی (دانشیار)

دانشکده‌ی مهندسی نرم‌افزار، دانشگاه صنعتی شریف

به منظور استفاده از روش زیست‌شناختی^۱ در بهبود عملکرد سیستم‌های لجن فعال برای تصفیه‌ی پساب کارخانجات لبنتات، از جمیعت میکروبی لجن فعال هوازی سیستم تصفیه‌ی شرکت سهامی صنایع شیر ایران (پگاه) ده باکتری جدا کرده و عملکرد هر یک از این ریزاندامگان^۲ را در کاهش بار آکی پساب مورد بررسی قرار داده‌ایم. بعد از مدت ۳۰ روز نمونه‌گیری، باکتری‌های BP_۲ و BP_۴ میزان اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (COD) را به ترتیب ۷۰/۵ و ۶۹/۵ درصد کاهش دادند. با اعمال شرایط بهینه در دمای ۳۰-۳۵°C pH برابر با ۱۱-۱۲، و نیز دور هنوز ۱۵۰(rpm) باکتری، میزان اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (COD) توسط BP_۲ به میزان ۸۴/۷ درصد کاهش یافت. این باکتری از میزان کربوهیدرات، چربی و پروتئین پساب به ترتیب ۴۸، ۴۵/۳۰ و ۵۳ درصد کاسته است. مخلوط BP_۲ و BP_۴ به اندازه‌ی BP_۲ تنها کارایی نداشته است. بنابراین BP_۲ بعنوان بهترین باکتری در سیستم انتخاب شد و با افزایش آن به توانک هواهدی لجن فعال و غالب شدن بر مخلوط میکروبی می‌توان کارایی عملکرد سیستم لجن فعال را بالا برد.

maghsodi@sharif.edu
yaghmaei@sharif.edu

مقدمه

از جمله روش‌های قابل اجرا استفاده از میکروب مناسب به منظور تصفیه‌ی پساب است. ریزاندامگان انتخاب شده باید قابلیت کاهش آلودگی مربوطه را داشته باشد و در ضمن در ضمن در برایر مواد سمی و آلوده مقاوم باشد. استفاده از روش افزایش زیست‌شناختی در تصفیه‌بذری پساب‌ها گسترش یافته است زیرا این روش از نظر اقتصادی مقرر بوده و از نظر عملی نیز راحت است و پیچیدگی خاصی ندارد. هدف از اجرای این طرح جداسازی باکتری مناسب از جمیعت میکروبی پساب حاوی مواد لبندی بوده که بعد از رشد و خالص‌سازی این باکتری‌ها، کاهش بار آلودگی مانند COD^۳ و سایر مواد آلی اندازه گرفته می‌شود.

مواد موجود در پساب‌هایی که وارد رودخانه و آب‌های سطحی شهرها می‌شوند بیشتر ناشی از کارخانه‌های صنعتی هستند که همراه با پساب‌های خانگی سبب آلودگی آب‌های سطحی و زیرزمینی می‌شوند. ورود این پساب‌ها که ممکن است قبل از تصفیه نشده باشند، به آلودگی شدید محیط زیست منجر می‌شود. این آلاینده‌ها مواد قابل تجزیه‌ی میکروبی، ترکیبات آلی فرآر، فلزات سمی، ریزاندامگان بیماری‌زا، مواد قلایی و شوینده‌ها را شامل می‌شوند.

ائزات مهمی که این آلاینده‌ها بر محیط زیست دارند شامل آلودگی آب‌های آشامیدنی، نایودی آبزیان و بدبویی و تجمع نخاله‌ها در محیط است. مثلاً غلظت بالای مواد آلی منجر به تخلیه‌ی اکسیژن محلول موجود در آب مورد تعذیبی ماهی‌ها و سایر آبزیان می‌شود. این امر به ضعف اقتصادی افرادی می‌انجامد که از طریق صید ماهی و آبزیان، امراض معاشی می‌کنند.

برای حفظ طبیعت و باک نگهداشتن آب‌ها از این گونه آلودگی‌ها، اعمال استانداردهای زیست‌محیطی توسط دولت‌ها ضروری است. چون برقراری این استانداردها مخارج و هزینه‌هایی را بر دولت‌ها تحمیل می‌کند، می‌توان راه حل‌های دیگری را تعییه و اعمال کرد.

مواد و روش‌ها

مشخصات پساب

نمونه‌ی مورد نیاز برای جداسازی میکروب‌ها از لجن فعال کارخانه‌ی شرکت سهامی صنایع شیر ایران (پگاه) تهیه شد که pH آن در زمان برداشت ۷/۵ است. مشخصات پساب کارخانه‌ی شرکت سهامی صنایع شیر ایران (پگاه) در جدول ۱ ارائه شده است.

از محیط‌های فوق بشقاب استریل تهیه کرده و از کلیه‌های موجود در بشقاب‌های اول به صورت خطی در بشقاب‌های تازه تلفیق می‌کنیم و در انکوباتور 30°C قرار می‌دهیم. به این ترتیب از هر ریزاندامگان یک کلینی نک خالص به دست می‌آید که به منظور نگهداری و آزمایش‌های کیفی و کمی قابل انتقال به محیط اسلنت است. در این مرحله 10°C ریزاندامگان به دست آمده است که بعد از رنگ آمیزی گرم و مشاهده میکروسکوپی آن‌ها مشخصات ظاهری شان در جدول ۲ آمده است.

جدول ۱. مشخصات کمی و کیفی پساب کارخانه شرکت سهامی صنایع شیرا ایران (پگاه).

دبي روزانه	$3500 \text{ m}^3/\text{day}$
اکسیژن مورد نیاز بیوشیمیابی (BOD)	$15000-18000 \text{ mg/lit}$
اکسیژن مورد نیاز شیمیابی (COD)	$18000-28000 \text{ mg/lit}$
چربی	$1600-3000 \text{ mg/lit}$
مواد معلق	$1000-2500 \text{ mg/lit}$
pH	۹-۱۲

نتایج و بحث

بررسی کاهش COD با استفاده از باکتری‌های جدا شده از پساب میزان فعالیت باکتری‌های جدا شده با اندازه‌گیری COD و کاهش آن تعیین شد.^[۱] از این 10°C باکتری جدا شده، بیشترین میزان کاهش COD را باکتری‌های BP_۲ و BP_۴ از خود نشان دادند. در شکل ۱ شاهد کاهش سریع COD^[۱] تا حدود ۵۰ درصد در 2°C تا 3°C روز اول هستیم. این کاهش ناشی از تجزیه‌ی مواد قندی است زیرا این مواد از نظر ریست‌ستاخنی مواد ساده‌ی تجزیه‌شونده هستند. بعد از تجزیه‌ی مواد قندی نوبت تجزیه‌ی مواد پروتئینی و چربی است که در روزهای هشتم و دهم این تجزیه‌ی صورت می‌گیرد و COD پساب به میزان 65% تا 70% درصد کاهش می‌یابد؛ بعد از آن تغییری در COD پساب مشاهده نمی‌شود.^[۱] در شکل ۱ میزان کاهش COD نمونه‌ها در زمان‌های مختلف نشان داده شده است. بعد از 3°C روز، باکتری‌های BP_۲ و BP_۴ به ترتیب $7/46\%$ و $7/52\%$ کاهش می‌یابند، و از نمونه‌های BM_۱، BM_۲ و BM_۴ نیز به ترتیب $18/3\%$ و 20% و 22% کاهش می‌شود. در روز پنجم نیز در نمونه‌های BM_۱، BM_۲ و BP_۴ به ترتیب $59/5\%$ ، $62/7\%$ و $65/7\%$ کاهش مشاهده می‌شود. از روز دهم به بعد این کاهش به میزان $66/3\%$ ، $70/7\%$ و $69/3\%$ می‌رسد و تا روز سی ام تغییری نمی‌کند. در نهایت باکتری‌های BP_۲ و BP_۴ به عنوان پهش‌رین میکروب انتخاب شدند.^[۲]

استفاده از کشت غنی شده^۳

در این مرحله از یک محیط مغذی مانند خورش مغذی استفاده شد. 10 g از لجن را در 90 ml میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل حل کرده و از قسمت روبی به میزان 1 ml میلی‌لیتر به 250 ml میلی‌لیتر محیط نوتریت پلات استریل تلفیق می‌کنیم و در شیکر انکوباتور برای مدت 24 h تا 48 h ساعت در دمای 30°C قرار می‌دهیم.

انتقال به محیط کشت اختصاصی

بعد از 24 h ساعت، رسید بسیار خوبی در محیط خورش مغذی مشاهده شد. محیط کشت خورش شیر^۴ به عنوان محیطی اختصاصی برای ریزاندامگان موجود در پساب، در نظر گرفته شد. ترکیبات این محیط مشتمل است بر:

بیتون^۵ 50 g کرم
عصاره‌ی مخر^۶ 3 g کرم
شیرخشک^۷ 10 ml لیتر
 250°C در $7/2\text{ pH}$

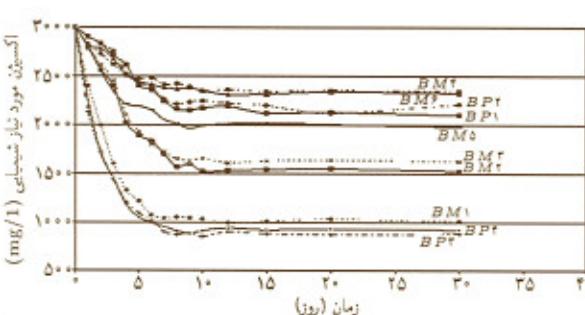
بعد از تهیه و ضد عفنونی محیط کشت فوق، 1 ml لیتر از محیط غنی شده را به آن اضافه کرده و به مدت 24 h تا 48 h ساعت در انکوباتور هم زن 30°C قرار می‌دهیم. بعد از این مدت زمان اگر شاهد رشد خوبی باشیم، یکبار دیگر این عمل را انجام می‌دهیم.

انتقال به محیط جامد

پس از تکمیل رشد در محیط مایع، نوبت انتقال ریزاندامگان رشد کرده به محیط جامد است. در این مرحله دو محیط جامد در نظر گرفته شده است: ۱. محیط کشت آگار شیر^۸؛ ۲. محیط کشت PCA^۹. برای تهیه محیطی کشت آگار شیر به محیط کشت خورش شیر به میزان 15 g آگار در یک لیتر شیر اضافه می‌کنیم؛ محیط دوم نیز به صورت آماده موجود است. از محیط‌های تهیه شده پس از اتوکلاو در بشقاب‌های ضد عفنونی شده پخش می‌کنیم. سپس از محیط کشت مایع، رفت‌های مختلف تهیه کرده و به محیط‌های جامد در بشقاب منتقل می‌کنیم و در انکوباتور 30°C قرار می‌دهیم.

حالص‌سازی^{۱۰}

بعد از اینکه ریزاندامگان به صورت گستردگی در سطح بشقاب‌ها رشد کرده، دوباره



شکل ۱. منحنی کاهش COD پساب با شرایط 10°C pH ۵ و 3000 ml/g در لیتر توسط 10 ml میکروب انتخاب شده.

جدول ۲. مشخصات ظاهری ریزاندامگان جدا شده از لجن فعال در این تحقیق.

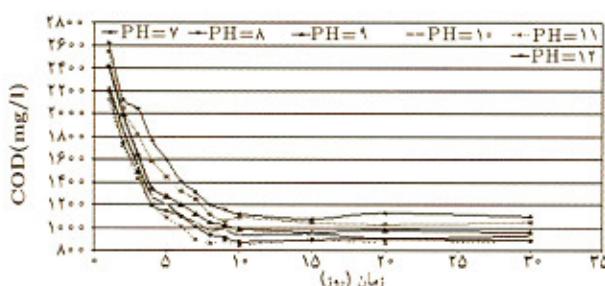
نام میکروب	شکل ظاهری	متغیر	گرم	خلوص	محیط کشت اختصاصی
BM _{۱۴}	کوکسی‌های بسیار ریز	BP _{۱۷}	آگار شیر	خوب	منقی
BM _۷	کوکو باسیل‌های بسیار ریز	BP _{۱۷}	آگار شیر	خوب	منقی
BP _{۱۷}	باسیل‌های درشت	BP _{۱۷}	PCA	متوسط	مشبت
BM _۷	باسیل‌های ریزتر از	BP _{۱۷}	آگار شیر	خوب	مشبت
BP _۷	باسیل‌های بلند	BP _۷	PCA	خوب	مشبت
BM _۷	کوکو باسیل‌های متوسط	BP _۷	آگار شیر	خوب	منقی
BP _۷	باسیل‌های بعضی‌ها اتحاد دارند	BP _۷	PCA	خوب	مشبت
BM _۵	کوکو باسیل‌های نسبتاً بزرگ	BP _۵	آگار شیر	خوب	منقی
BM _۶	کوکو باسیل‌های نسبتاً بزرگ	BP _۶	آگار شیر	متوسط	مشبت
BP _۶	کوکسی‌های درشت‌تر از BM _۶	BP _۶	PCA	خوب	منقی

اثر pH اولیه بر کاهش COD پساب

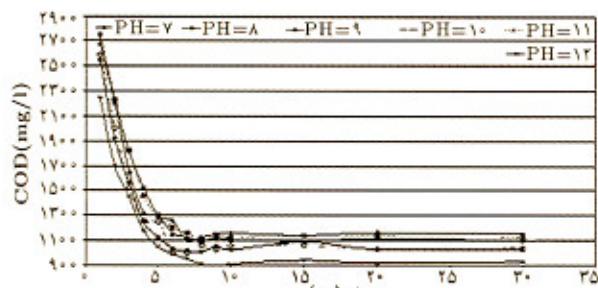
در شکل‌های ۴ و ۵ تغییر pH اولیه‌ی پساب، حذف COD را تمازیان 10° در pH ۷ در میکروب‌های BP_۷ و BP_۶ کاهش می‌دهد. بهترین مقدار برای pH اولیه‌ی پساب برابر ۱۱ است. از مقایسه‌ی نمودارهای مربوط به pH و COD مشخص می‌شود که در ۲-۳ روز اول فرایند که بیشترین مقدار هضم مواد آلی فاضلاب، مخصوصاً مواد فنی، صورت می‌پذیرد شاهد افت شدید pH هستیم و در ادامه با تجزیه‌ی اسیدهای تولید شده در ۲-۳ روز اول آغاز تجزیه‌ی پروتئین‌ها و چربی‌ها، pH به تدریج افزایش یافته و در بازه‌ی ۸,۵-۹,۵ ثابت می‌شود. همزمان با اتمام عمل هضم میکروبی مقدار pH نیز ثابت می‌شود.

اثرات دما بر عملکرد سیستم تصفیه

دما یکی از پارامترهای مؤثر بر فعالیت میکروبی سیستم است و تغییرات آن باعث



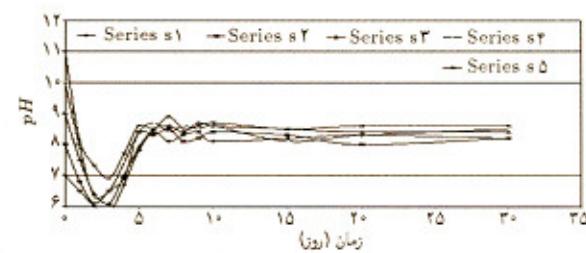
شکل ۴. بررسی تغییرات COD در pHهای مختلف در طول فرایند تصفیه توسط میکروب BP_۷.



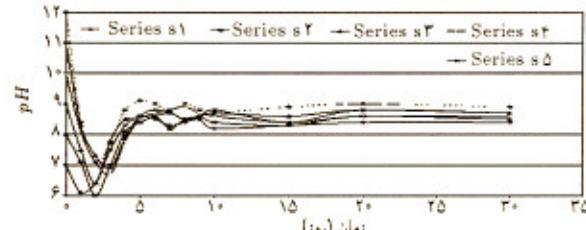
شکل ۵. بررسی تغییرات COD در pHهای مختلف در طول فرایند تصفیه توسط میکروب BP_۶.

بررسی تأثیر pH بر سیستم تصفیه

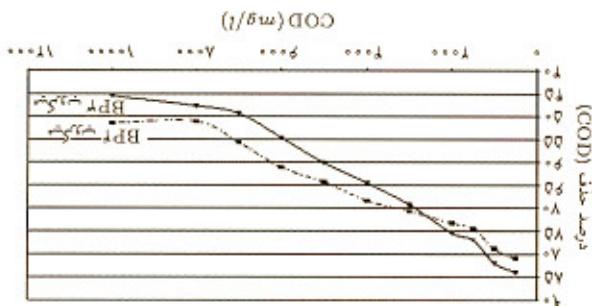
pH فاضلاب ورودی به سیستم یکی از عوامل مؤثر در نوعه‌ی عملکرد سیستم تصفیه لجن فعال است. پساب صنایع لبنی به علت ترکیب شدن با آب شستشوی کارخانه که اکنده از مواد شوینده قلبایی است همیشه دارای pH قلبایی ۱۰-۱۱,۵ است، که مطابق بررسی‌های انجام گرفته برای فعالیت ریزاندامگان تصفیه‌کننده‌ی پساب لبیات مناسب است. البته این pH در طول زمان تصفیه دست‌خوش تغییرات زیادی می‌شود و در نهایت در مقدار ۹-۸ ثابت می‌شود. این قلبایی بدون اولیه‌ی پساب تأثیر کمی در تسريع عملکرد سیستم تصفیه دارد.^[۷] برای انجام آزمایشات بهینه‌سازی pH نمونه‌های مربوط با شرایط اولیه COD برابر ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و pH قلبایی مختلف تهیه شد. بعد از تنقیح، میکروب‌های انتخاب شده در انکوپاتور همزمان با دمای ۳۰ درجه و هوادهی 15° rpm قرار داده شد تا در زمان‌های مختلف از آنها آزمایش COD و pH به عمل آید. از شکل‌های ۲ و ۳ پیداست که در میکروب‌های BP_۷ و BP_۶ pH در ۲ تا ۳ روز اول به شدت افت کرده و به مقدار ۶-۷ در نمونه‌ها می‌رسد که علت این امر ظهور یکسری اسیدهای آلی حاصل از تجزیه‌ی مواد آلی است. ولی در ادامه فرایند به علت تجزیه‌ی اسیدهای آلی تشکیل شده pH افزایش یافته و در مقدار ۸,۵-۹,۵ ثابت می‌شود.^[۸,۹]



شکل ۶. بررسی تغییرات pH در طول فرایند تصفیه توسط میکروب BP_۷.



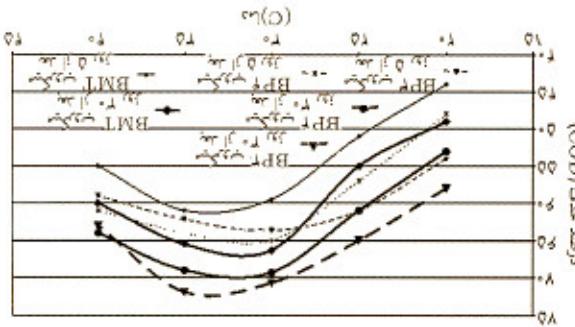
شکل ۷. بررسی تغییرات pH در طول فرایند تصفیه توسط میکروب BP_۶.



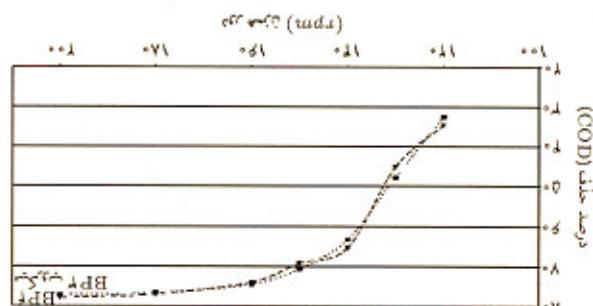
የሚከተሉት የCD-ROM በመሆኑ ስራውን እንደሚከተሉት ይመለከታል፡፡

لیستہ جوں میں گزرے ہیں COD کی تھیں

መ. ፲፻፭፻ ዓ.ም. በ፲፻፭፻ ዓ.ም. ከ፲፻፭፻ ዓ.ም.



፳፻፷፻ ዓ.ም. በ፲፻፷፻ ዓ.ም. ከ፲፻፷፻ ዓ.ም.



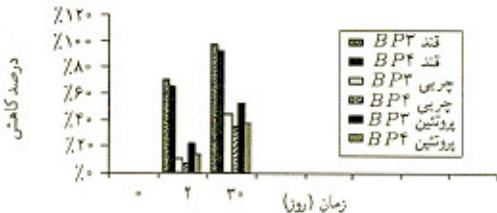
፳፻፲፭/፪/፩	፳፻፲፭/፪/፪	፳፻፲፭/፪/፫	፳፻፲፭/፪/፬
፳፻፲፭/፪/፭	፳፻፲፭/፪/፮	፳፻፲፭/፪/፯	፳፻፲፭/፪/፱

አንበሳ ከዚህ ደንብ በኋላ ስምምነት ተረጋግጧል፡፡

لمساتي في المدرسة

፩ ተናሸ ስርዕስ የሚያስፈልግ ነው እንደሆነ የሚያስፈልግ ነው ይህ

جامد پساب معلوم بوده و برابر با مقادیر ارائه شده در جدول ۳ است. برای ارائهٔ تحلیلی مناسب از داده‌های فوق، این داده‌ها در شکل ۹ مورد مقایسه قرار گرفته‌اند و جناب که مشاهده می‌شود میکروب BP_۲ در حذف کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها کاملاً موفق‌تر بوده است. این مسئله زمانی که پساب اولیه حاوی درصد‌های بالا از این ترکیبات باشد پسیار مهم خواهد بود. لذا میکروب BP_۲ کارتر از میکروب BP_۴ است.

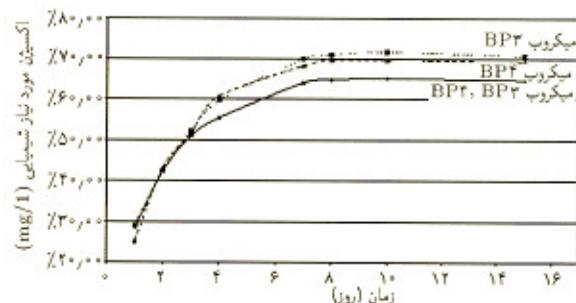


شکل ۹. مقایسهٔ عملکرد میکروب‌های BP_۲ و BP_۴ در کاهش عوامل آلودگی پساب.

استفاده از ترکیب میکروبی

با توجه به اینکه میکروب‌های BP_۲ و BP_۴ بهترین عملکرد را در تجزیه و هضم پساب داشتند این احتمال وجود دارد که استفاده از ترکیب این میکروب‌ها اثر بیشتری بر هضم پساب و کاهش آلودگی آن داشته باشد. لذا ترکیب مساوی این دو میکروب به عنوان عامل تصفیه‌کننده، در یک نمونهٔ پساب با شرایط مشابه موارد بالا (COD ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و pH معادل ۱۱) مورد آزمایش قرار گرفت. آزمایشات در ارلن‌های ۲۵۰cc با ۸٪ فضای خالی در همزن با دور ۱۵۰ rpm انجام گرفت و در طول ۱۵ روز نمونه‌ها مورد آزمایش COD قرار گرفتند. استفاده از ترکیب میکروبی اثر منفی بر عملکرد سیستم داشت و در این صورت درصد حذف COD از ۷۰٪ و ۶۹٪ برای میکروب‌های BP_۲ و BP_۴ به ۶۴٪ کاهش یافته است (شکل ۱۰).

لذا استفاده از ترکیب میکروبی برای تصفیهٔ پساب توصیه نمی‌شود. در سال ۱۹۹۵ در فلیپین در زمینهٔ تصفیهٔ پساب کارخانهٔ کنسرو ماهی^[۲] و در سال ۲۰۰۲ در ایلان در تصفیهٔ پساب کارخانهٔ نوشایه‌سازی^[۱۱]، با استفاده از روش افزایش میکروب‌های پهینه شده به پساب، نتایجی بدست آمده که عملکرد آنها مشابه نتایج این تحقیق است. بنابراین با جداسازی میکروب از لجن فعال و بهیه‌سازی شرایط آنها، و نیز افزایش ریزاندامگان یا مخلوط ریزاندامگان بهیه شده به پساب، می‌توان بر کارایی تصفیه‌ی سیستم لجن فعال افزود.



شکل ۱۰. بررسی استفاده از ترکیب میکروب‌ها در تصفیهٔ پساب.



شکل ۱۱. باکتری BP_۲.

نتیجه‌گیری

از آزمایشات انجام گرفته می‌توان نتیجه گرفت که میکروب BP_۲ (شکل ۱۱) بهترین میکروب در تصفیهٔ پساب است. با اعمال شرایط بهیه در دمای ۳۰-۳۵°C و pH ۱۱-۱۵ و دور همزن ۱۵۰ rpm، میزان اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (COD) نا ۸۴٪ درصد کاهش یافته است. باکتری فوق از میزان کربوهیدرات، چربی و پروتئین پساب را بهتریب ۹۸، ۴۵٪ و ۵۳ درصد می‌کشد. مخلوط BP_۲ و BP_۴ به اندازه‌ی BP_۲ تهیه کارآبی نداشته است. بنابراین بهترین باکتری در سیستم انتخاب شد و با افزایش آن به تانک هواده‌ی لجن فعال و غالب شدن بر مخلوط میکروبی می‌توان کارایی عملکرد سیستم لجن را افزایش داد.

بررسی کاهش سایر عوامل آلودگی پساب

بعد از اینکه آزمایش COD بر روی نمونه‌های میکروبی مختلف انجام شد، در نهایت میکروب BP_۲ بهترین بازدهی و بیشترین مقاومت را در مقابل تغییرات دما و باردهی اولیهٔ پساب و pH از خود نشان داد. میکروب BP_۴ نیز که بعد از میکروب BP_۲ دارای بهترین عملکرد بود برای آزمایشات کامل‌تر مورد بررسی قرار گرفت و کاهش سایر عوامل آلودگی پساب (یعنی پروتئین، چربی و محتوای کربوهیدرات (قند) نیز در نمونه‌های نگه‌داری شده‌ی قبلی که بعد از انجام آزمایش COD نگهداری شده بود آزمایش شد^[۱۲] و نتایج زیر بدست آمد. ابتدا یاد آور می‌شویم که درصد اولیهٔ مواد

پانوشت

1. bioaugmentation
2. micro-organism
3. Chemical Oxygen Demond(COD)
4. enrichment culture
5. milk borth
6. peptone
7. yeast extract
8. milk solid
9. pH
10. milk agar
11. plate count agar

12. screening
13. bacteria in milk agar
14. bacteria in pca
15. revolution per minute

منابع

1. APHA- AWWA- WPCF, Standard methods for the examination of water and wastewater, 15th ed., pp. 92-93 (1981).
2. Simpson, J.R. "Some aspects of the biochemistry of aerobic organic waste treatment", *Proceeding of the second symposium on the treatment of wastewaters.* P.C.G. Isaac, ed. Pergamon Press: NY, pp. 25-26 (1960).
3. Zamora, A.F., and Lit M.A.L. "Biodegradation of effluents from fish canning factory and dairy products processing plant", *Environmental Biotechnology: Principles and Applications*, pp. 481-409 (1995).
4. Vidal, G., Carvalho, A., Mendez, R., Lema, J.M. "Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy wastewaters", *Bioresource Technology* (74), pp. 231-239, (2000).
5. Viraraghavan, T., Kikkeri, S. R. "Effect of temperature on anaerobic filter treatment of dairy wastewater", *Wat. Sci. Tech.*, **22** (9), pp. 191-198 (1999).
6. Alavez-Mateos, P., Pereda-Marin, J., Carta- Escobar, F., Duran-Barrantes, M.M. and E. Guillen-Jimenez "Influence of the inoculum and initial pH on dairy effluent biodegradation and mineralization", *Chem.Biochem. Eng. Q.*, **14**(3), pp. 101-106 (2000).
7. Carta-Escobar, F. Perda-Maryn, J., Alvarez-Mateos, P. Romero-Guzman, F., Duran-Barantes, M.M. and Barriga-Mateos F. "Aerobic purification of dairy wastewater in batch reactors: kinetic study of the influence of a pre-storage stage without aeration in the degradation of organic matter and ammonium consumption by nitrification", *Process Biochemistry*, Article in press (2004).
8. Guillen Jimenez, E., Alvarez-Mateos, P., Romero-Guzman, M. F. and Pereda - Marin, J "Bio- Mineralization of organic matter in dairy wastewater, as affected by pH.The evolution of ammonium and phosphates", *at Res.* **34**(4), pp. 1215-1224 (2000).
9. Carta, F., P. Alvarez, P., Romero, F. and Pereda, J. "Aerobic purification of dairy wastewater in continuous regime; reactor with support", *Process Biochemistry*, (34), pp. 613-619 (1999).
10. Dennis, A. and Burke, E., "Dairy wastewater anaerobic digestion handbook", Environmental Energy Company, 6007 Hill Street, Olympia, WA 98516, June (2001).
11. Maghsoodi, V., "Biological pretreatment of a beverage waste using yeast isolated from the factory sludge", *Int. J. of En.*, **15**(3), pp. 223-226 (2002).