



KLOROFENOLLÜ BİLEŞİKLERİN AYRIŞABİLİRLİĞİNİN BİYOSURFAKTAN KULLANIMI İLE HIZLANDIRILMASI

Ayla UYSAL ve Aysen TÜRKMAN

*Dokuz Eylül Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü,
Kaynaklar Kampüsü, 35160 Buca-İZMİR*

E-posta: ayla.uyisal@deu.edu.tr, aysen.turkman@deu.edu.tr

Öz: Bu çalışmada 2,4-Diklorofenol'ün (2,4-DKF) biyolojik ayrışabilirliği üzerine biyosurfaktanların etkisi, tam karışimli aerobik reaktör sistemi kullanılarak incelenmiştir. 2,4-DKF giderim çalışmasında kolay parçalanabilen bir substrat (glikoz) ve aklimedilmiş kültür kullanılmıştır. Biyosurfaktan olarak JBR 425 rhamnolipid kullanılmıştır. Biyosurfaktanın eklendiği reaktör (test reaktörü) ile, eklenmediği kontrol reaktörü paralel olarak çalıştırılmıştır. 30-100 mg/l 2,4-DKF konsantrasyon aralığında; test reaktöründe arıtma verimi %99.7-99.8 aralığında iken, kontrol reaktöründe arıtma verimi %97.4-97.7 aralığında bulunmuştur. 2,4-DKF konsantrasyonu 150 mg/l değerine yükseltildiğinde,

2,4-DKF arıtım verimi kontrol reaktöründe %24.2'ye test reaktöründe ise %32.9'a düşmüştür. Sonuç olarak biyosurfaktan uygulamasının 2,4-DKF'ün ayrışma hızını artırdığı gözlenmiştir. Test reaktöründe, biyosurfaktan mevcudiyeti bakteriyel büyümeyi artırmış ve mikroorganizmalar 2,4-DKF toksisitesinden daha az etkilenmişlerdir.

Anahtar Kelimeler: 2,4-Diklorofenol, aerobik reaktör, biyosurfaktan, aklimasyon, toksisite

ENHANCEMENT OF BIODEGRADABILITY OF CHLORINATED COMPOUNDS BY USING BIOSURFACTANTS

Abstract: Effects of biosurfactants on biodegradability of 2,4-Dichlorophenol (2,4-DCP) was investigated by continuous stirred aerobic reactor. In the 2,4-DCP treatability studies, acclimated culture was used in the presence of readily degradable substrate (glucose). JBR 425 rhamnolipid was used as biosurfactants. Test reactor with added biosurfactants and control reactor (without biosurfactants) were used in parallel tests. When 2,4-DCP concentration ranged between 30-100 mg/l, the 2,4-DCP removal ranged between 99.7 and 99.8% in the test reactor, the 2,4-DCP removal ranged between 97.4 and 97.7% in the control reactor. Removal efficiency of 2,4-DCP decreased up to 24.2% in the control reactor, 32.9% in the test reactor when concentration of 2,4-DCP was increased from 100 to 150 mg/l. As a result, application of biosurfactant has caused an increase in biodegradation rate of 2,4-DCP. In the test reactor, the presence of biosurfactant stimulated bacterial growth and microorganisms are affected less from 2,4-DCP toxicity.

Keywords: 2,4-dichlorophenol, aerobic reactor, biosurfactants, acclimation, toxicity

GİRİŞ

Halojenürlü aromatik bileşikler, atıksudaki kimyasalların önemli bir grubu olup, klorofenoller en yaygın toksik bileşikler arasında yer almaktadır. Klorofenollü bileşikler; petrokimya, rafineriler, plastik, pestisit, herbisit endüstrilerinin atıksularında bulunmaktadır (Krumme ve Boyd, 1988). Yüksek toksisiteleri, ayrışmaya karşı dirençleri, biyolojik birikimleri, kanserojen ve mutajenik özelliklerinden dolayı; klorofenoller ekolojik önem taşıyan

kirleticiler arasında yer almaktadır (Xianghun ve diğ., 2003). Klorofenollerin yoğun olarak kullanımları, yeraltı ve yüzeysel sularda değişik konsantrasyonlarda klorofenol kirliliğine neden olmaktadır. Dünyada giderek artan endüstrileşmeye paralel olarak, daha sıkı deşarj standartları uygulanmaya başlamıştır. İçme suyunda klorofenol konsantrasyonu Dünya Sağlık Örgütü tarafından 1 mg/l olarak belirlenmiştir.

Dolayısıyla, doğal suların kalitelerinin korunabilmesi için atıksulardan klorofenollerin giderilmesi şarttır (Ha ve diğ., 2000). Klorofenollerin biyolojik olarak ayrışabilirliği fenolden daha düşüktür ve aromatik zincirdeki klor sayısının artması ile biyolojik ayrışma azalmaktadır (Kennes ve diğ., 1996). Aktif karbon adsorpsiyonu, iyon değiştirme, yakma ve biyolojik ayrışmayı içeren fiziksel, kimyasal ve biyolojik metodlar gibi pek çok farklı yöntemler klorofenolik bileşiklerin giderilmesi için önerilmektedir (Raung, 1984). Biyolojik arıtma düşük arıtma giderlerinden dolayı diğer arıtma metodlarına göre daha üstündür. Klorofenollerin biyolojik ayrışması, hem aerobik hem de anaerobik sistemlerde çalışılmıştır. Anaerobik şartlar altında, mikroorganizmalar klorofenollerin toksisitesi nedeniyle oldukça hızlı bir şekilde inhibe olmaktadır (Field ve diğ., 1995). Şimdiye kadar klorofenol arıtımıyla ilgili çalışmalarda düşük klorofenol konsantrasyonlarında (<100 mg/l) başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Ettala ve diğ., 1992; Valo ve diğ., 1990; Jarvinen ve diğ., 1994; Armenante ve diğ., 1999; Puhakka ve diğ., 1994; Puhakka ve diğ., 1995; Wang ve diğ., 2000).

Klasik aktif çamur sistemleri atıksudaki kolay ayrışabilen bileşikler için başarılı sonuçlar vermektedir ancak toksik veya güç ayrışabilen tehlikeli bileşikler için durum böyle değildir. Bazı güç ayrışabilen bileşiklerin aniden sisteme girmesi veya girişteki yüklemelerin artması klasik aktif çamur sistemlerinin başarısızlığa uğramasına neden olabilmektedir. Bu sistemin başarısızlığı, ayrışması zor bileşikleri ayrıştırabilen bakteri popülasyonunun azlığından ve bu kirleticilerin sistemdeki aktif çamuru inhibe etmesinden kaynaklanmaktadır (Quan ve diğ., 2004).

Eğer kirleticiler ve mikroorganizma teması geçmezse, ayrışma potansiyeli mevcut olsa bile biyolojik ayrışma meydana gelmez. Mikroorganizmaların kirleticiyi alabilme yeteneğinin düşük seviyede oluşu, klorofenollü bileşiklerin ayrıştırılmasında düşük hıza neden olan en önemli faktörlerden birisidir.

Hem hidrofik (suda çözünebilir) hem de hidrofobik (suda çözünmeyen) fonksiyonel grupları içeren moleküller olan surfaktanlar, çok fazlı sistemlerde polar ve polar olmayan fazlar arasındaki yüzeyde ya da yüzeyler arasında etkin olurlar ve hidrofobik grubun varlığı nedeniyle her iki fazın yüzey özelliklerini değiştirirler. Bu

etkinlikleri yoluyla buldukları ortamın yüzey gerilimini ya da yüzeyler arası gerilimi düşürürler. Surfaktanlar kimyasal olarak ya da mikrobiyolojik olarak üretilebilirler. Kimyasal yöntemlerle üretilen surfaktanlar sentetik surfaktanlar, mikrobiyolojik olarak birçok farklı mikroorganizma tarafından çoğunlukla oksijenli ortam koşullarında üretilenler ise mikrobiyal surfaktanlar (biyosurfaktanlar) olarak isimlendirilirler.

Biyosurfaktanlar; karbonhidratları, hidrokarbonları, yağları veya bunların karışımını karbon kaynağı olarak kullanan aerobik mikroorganizmalar tarafından üretilmektedirler (Bognolo, 1999). Biyolojik surfaktanlar; yapısal farklılıkları, biyolojik olarak ayrışabilirlikleri, ekstrem sıcaklık, pH ve tuzlulukta etkinliklerinden dolayı özel uygulamalar için sentetik surfaktanlara göre avantajlara sahiptirler. Bu tür biyolojik temelli surfaktanların avantajları, biyolojik olarak doğayla uyumluluk içermeleri ve sentetik surfaktanlara göre toksisitesinin düşük olmasıdır. Belirli hidrokarbon kirleticilerinin mikrobiyal ayrışmasının biyosurfaktanların eşzamanlı üretimi ile kolaylaştığı gösterilmektedir. Buna karşılık, sentetik surfaktanlar yüksek konsantrasyonlarda ortama eklendiğinde mikrobiyal aktiviteyi inhibe ettikleri görülmektedir (Thangamani ve Shreve, 1994). Surfaktanlar, yüzey veya arayüzey gerilimini azaltmaktadırlar. Su ve susuz faz arasındaki arayüzey geriliminin azalması ve misel oluşumu ile hidrofobik bileşiklerin çözünürlüğü artarak bu bileşiklerin mikroorganizma tarafından alımı kolaylaştırılmaktadır (Diehl ve Borazjani, 1998).

Surfaktanlar, sudaki hidrofobik bileşiklerin çözünürlüğünü artırmaktadır. Bu artış surfaktanın, dozuna ve türüne bağlı olarak değişmektedir. Surfaktanların mevcudiyetinde hidrokarbonların çözünürlüğünün artması ile, biyolojik ayrışma hızlanmaktadır. Surfaktan molekülleri misellerde toplandıktan sonra, ayrışma kritik misel konsantrasyonunun üzerinde meydana gelmektedir. Ayrışmış hidrofobik bileşikler, miseller içinde tutulmaktadır. Bu durum, çözeltide surfaktan misellerinin mevcudiyetinde hidrofobik bileşiklerin ayrışmasını artırdığını göstermektedir.

Daha önce yapılmış olan çalışmalarda, başlıca PAH'ların (çoklu zincirli aromatik hidrokarbonların) ayrışması üzerine surfaktanların etkilerini incelemişlerdir. Ancak, klorlu fenollerde surfaktan yardımcı biyoremediasyon için iyi bir adaydır (Cort ve diğ., 2002).

Klorofenollü Bileşiklerin Ayrışabilirliğinin Biyosurfaktan Kullanımı ile Hızlandırılması

Cort ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (2002), TNP 10 noniyonik surfaktanının yüksek konsantrasyonlardaki pentaklorofenolün (PKF) biyolojik ayrışma hızını artırdığını saptamışlardır. Diehl ve Borazjani (1998), kesikli aerobik reaktörde yaptıkları çalışmada Span 80 ve Tergitol surfaktanlarına göre Brij 35'de PKF ayrışmasının daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Zhang ve diğ. (1998), aerobik reaktör sisteminde yaptıkları çalışmada klorlu hidrokarbonların biyolojik ayrışmasının surfaktanlar ile hızlandığını saptamışlardır. Yapılan çalışmalardan da görüleceği üzere, klorlu bileşiklerin ayrışabilirliğinin hızlandırılmasında daha çok surfaktanlar ile çalışılmıştır. Biyosurfaktanlar ile fazla bir çalışma yapılmamıştır.

Bu çalışmanın amacı; 2,4-DKF giderimini artırmak için aerobik reaktör sistemindeki 2,4-DKF'ü ayrıştıran karışık kültüre biyosurfaktan eklenmesinin sistem performansı üzerindeki etkisini araştırmaktır.

MATERYAL VE METOD

Aerobik Reaktör Modeli

Laboratuar koşullarında kurulan model reaktör sistemi Şekil 1'de gösterilmektedir. Paslanmaz çelikten yapılmış tam karışimli aerobik reaktör deneysel çalışmada kullanılmıştır. Aerobik reaktör hacmi 8.75 litre ve çökeltme ünitesinin hacmi 1.15 litredir. Atıksu girişi, besleme pompası ile reaktörün üstünden sürekli olarak yapılmıştır. Aerobik reaktör hava pompası ile

havalandırılmıştır. Çamur yaşı her gün aerobik reaktörden aktif çamurun belirli hacminin atılması ile (20 gün olarak) ayarlanmıştır.

Mikroorganizma

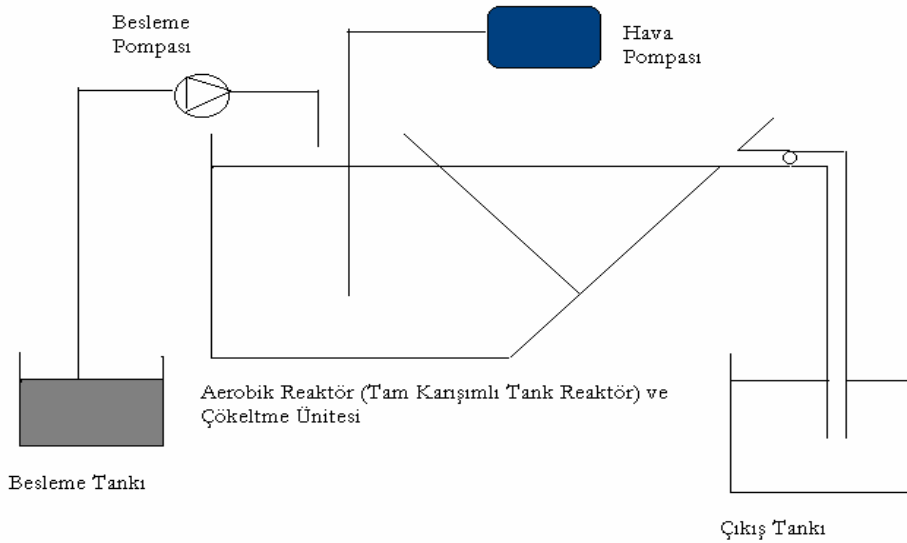
Aerobik reaktörde karışık kültür kullanılmıştır. Aşı çamuru İzmir Pakmaya Endüstrisi arıtma tesisinin aerobik ünitesinden elde edilmiştir.

Sentetik Atıksu

Çalışma boyunca kullanılan sentetik atıksu bileşimi, karbon kaynağı olarak glikoz, azot kaynağı olarak üre (50 mg/l), fosfor kaynağı olarak KH_2PO_4 (10 mg/l), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (75 mg/l), CaCl_2 (50 mg/l), FeCl_3 (2 mg/l) ve çeşitli konsantrasyonlarda (0-150 mg/l) 2,4-DKF'den oluşmuştur. Deneysel çalışma boyunca giriş KOİ (kimyasal oksijen ihtiyacı) konsantrasyonu 500 mg/l'de sabit tutulmuş ve azot ve fosfor konsantrasyonları C/N/P=100/10/2 olacak şekilde ayarlanmıştır.

Analitik Yöntemler

Numuneler, sıvı ortamdan mikroorganizmaları gidermek için 6000 rpm'de 25 dakika santrifüjlenmiştir. Üst sıvıda KOİ ve 2,4-DKF analizleri Standart Metodlara göre yapılmıştır. KOİ ölçümleri kapalı reflux kolorimetrik yöntemi ile yapılmıştır (APHA-AWWA, 1992). 2,4-DKF ölçümünde, 4-aminoantipirrin kolorimetrik tekniği kullanılmıştır (APHA-AWWA, 1992). Askıda katı madde ölçümleri çamur örneklerinin membran filtrasyonu ile



Şekil 1. Kullanılan tam karışimli aktif çamur reaktör model sistemi

Standart Metodlara (APHA-AWWA, 1992) göre yapılmıştır.

İşletme Koşulları

Çalışma boyunca reaktörlerdeki giriş KOİ konsantrasyonu 500 mg/l olarak sabit tutulmuştur. Karışık kültür, başlangıçta 2,4-DKF'ün yokluğunda reaktör performansını belirleyebilmek için sadece karbon kaynağı olarak glikoz ile beslenmiştir. Daha sonra yavaş yavaş 2,4-DKF'e aklime edilmiştir. Kontrol reaktöründe besleme suyu, biyosurfaktanın 2,4-DKF giderimindeki etkisini belirleyebilmek için biyosurfaktan içermemektedir. Kontrol reaktörü ile paralel çalıştırılan test reaktörü giriş besleme suyu biyosurfaktan içermektedir. Reaktörlerdeki sıcaklık, pH, çözülmüş oksijen konsantrasyonu ve MLSS konsantrasyonu işletim boyunca kontrol edilmiştir.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Kontrol ve Test Reaktöründeki 2,4-DKF Arıtım Verimlerinin Karşılaştırılması

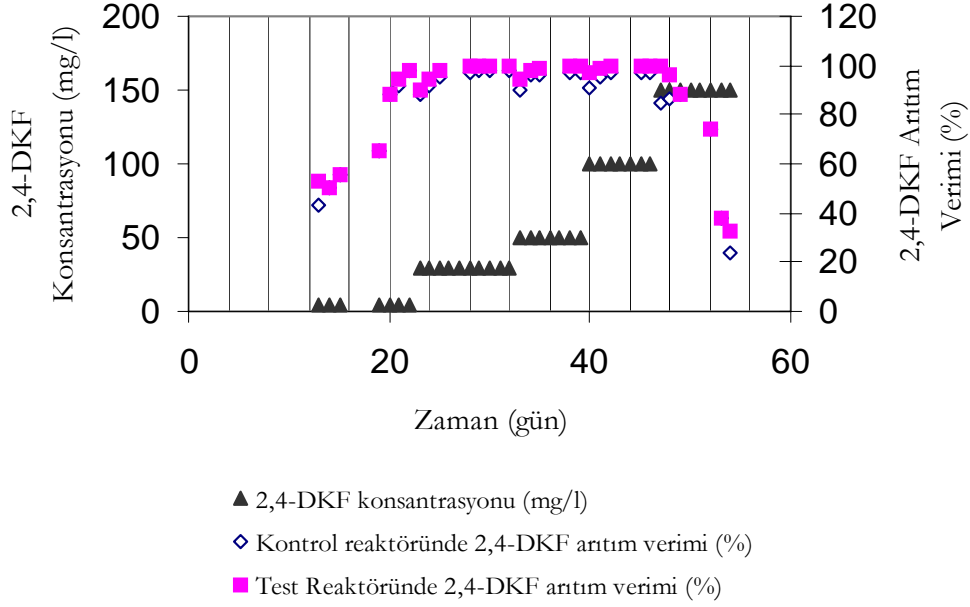
Reaktörler start-up periyodunda 12 gün boyunca sadece glikoz ile beslenmiş, bu periyot sonunda kontrol reaktöründe %91, test reaktöründe ise %89 KOİ arıtım verimi elde edilmiştir. Start-up

periyodundan sonra reaktörlerde 5 mg/l 2,4-DKF dozlamasına başlanmıştır. 10 günlük 2,4-DKF aklimasyon periyodu sonunda, her iki reaktörde de %98 2,4-DKF giderimi elde edilmiştir. 2,4-DKF aklimasyon periyodundan sonra, reaktörler 30-150 mg/l aralığındaki 2,4-DKF konsantrasyonlarında işletilmişlerdir. Bu 2,4-DKF konsantrasyon aralığında, test reaktörüne 15 mg/l biyosurfaktan konsantrasyonu (kritik misel konsantrasyonu) uygulanmıştır. İşletim periyodu 54 gün sürmüştür. İşletim koşulları ve 2,4-DKF arıtım verimleri Tablo 1'de sunulmuştur.

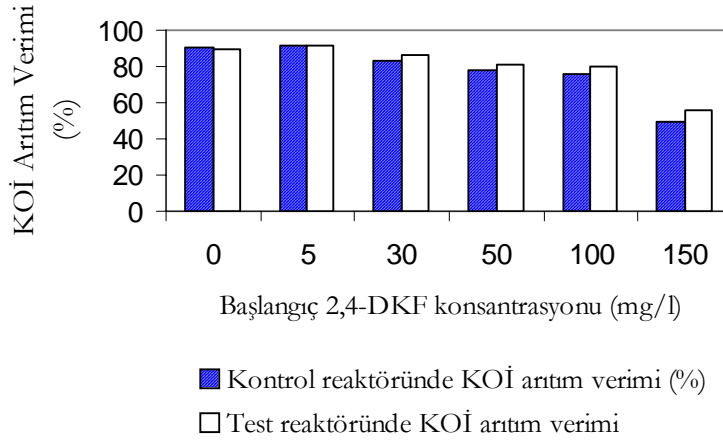
Tablo 1'de görüldüğü gibi, test reaktörü artan 2,4-DKF konsantrasyonlarının başlangıç işletimlerinde 2,4-DKF'ün inhibe edici etkisinden kontrol reaktörüne göre daha az etkilenmiştir. Durgun şartlar altında; 30-100 mg/l 2,4-DKF konsantrasyon aralığında kontrol reaktöründe 2,4-DKF arıtım verimi %97.4-97.7 aralığında, test reaktöründe ise %99.7-99.8 aralığında olmuştur. 2,4-DKF konsantrasyonu 150 mg/l'ye yükseltildiğinde ise, her iki reaktörde de 2,4-DKF arıtım verimleri düşmeye başlamış, bu düşüş kontrol reaktöründe test reaktörüne göre daha hızlı olmuştur. Şekil 2'de, kontrol ve test reaktöründeki 2,4-DKF arıtım verimlerinin karşılaştırılması görülmektedir.

Tablo 1. Kontrol ve test reaktöründeki işletim koşulları ve 2,4-DKF arıtım verimleri

Sistem	İşletim Periyodu (Gün)	2,4-DKF Konsantrasyonu (mg/l)	2,4-DKF Arıtım
			Verimi Aralığı (%)
Kontrol Reaktörü	0-12	0	0
	13-22	5	43-98
	23-32	30	88-97.7
	33-39	50	90-97.5
	40-46	100	90.7-97.4
	47-54	150	84.3-24.2
Test Reaktörü	0-12	0	0
	13-22	5	53-98
	23-32	30	90-99.8
	33-39	50	94-99.7
	40-46	100	97.4-99.8
	47-54	150	99.7-32.9



Şekil 2. İşletim periyodu boyunca kontrol ve test reaktöründeki 2,4-DKF artırım verimlerinin ve 2,4-DKF konsantrasyonunun değişimi



Şekil 3. Başlangıç 2,4-DKF konsantrasyonuna karşılık KOİ artırım verimleri.

Kontrol ve Test Reaktörlerinde KOİ Artırım Verimleri Üzerine Giriş 2,4-DKF Konsantrasyonu Etkisinin Karşılaştırılması

Tablo 2’de, kontrol ve test reaktöründeki durgun şartlardaki 2,4-DKF ve KOİ artırım verimleri ve çıkış konsantrasyon değerleri görülmektedir.

Şekil 3, 2,4-DKF konsantrasyon artışına karşılık KOİ artırım verimlerini göstermektedir. 2,4-DKF konsantrasyonu 5 mg/l’den 100 mg/l’ye artırıldığında; KOİ artırım verimi kontrol reaktöründe %92’den %76’ya, test reaktöründe de

%92’den %80.3’e düşmüştür. 2,4-DKF konsantrasyonu 150 mg/l’ye yükseltildiğinde KOİ artırım verimi kontrol reaktöründe %50’ye, test reaktöründe ise %55.3’e düşmüştür.

Şekil 4, 2,4-DKF konsantrasyonuna karşılık çıkış KOİ konsantrasyon değerlerini göstermektedir.

Tablo 2. Kontrol ve test reaktöründeki 2,4-DKF ve KOİ arıtım verimleri ve çıkış konsantrasyon değerleri

Sistem	Giriş Konsantrasyonu (mg/l)		Çıkış Konsantrasyonu (mg/l)		Arıtım Verimi (%)	
	KOİ	2,4-DKF	KOİ	2,4-DKF	KOİ	2,4- DKF
Kontrol Reaktörü	500	0	45.0	0	91.0	0
	500	5	40.0	0.1	92.0	98.0
	500	30	82.5	0.69	83.5	97.7
	500	50	108.5	1.25	78.3	97.5
	500	100	119.5	2.6	76.1	97.4
	500	150	250.0	113.7	50.0	24.2
Test Reaktörü	500	0	55.0	0	89.0	0
	500	5	40.0	0.1	92.0	98.0
	500	30	71.0	0.06	85.8	99.8
	500	50	95.0	0.15	81.0	99.7
	500	100	98.5	0.2	80.3	99.8
	500	150	223.5	100.65	55.3	32.9

5-100 mg/l aralığındaki 2,4-DKF konsantrasyonlarında; çıkış KOİ konsantrasyonu kontrol reaktöründe 40-119.5 mg/l aralığında, test reaktöründe de 40-98.5 mg/l aralığında olmuştur. 2,4-DKF konsantrasyonu 150 mg/l'ye yükseltildiğinde çıkış KOİ konsantrasyonu kontrol reaktöründe 250 mg/l'ye, test reaktöründe ise 223.5 mg/l'ye yükselmiştir.

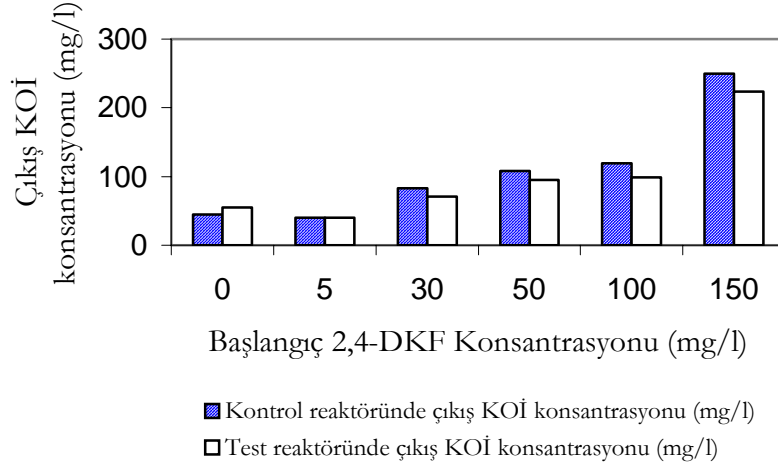
SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME

Aktif çamur biyolojik reaktörü (kontrol reaktörü) ve biyosurfaktan eklenen aktif çamur biyolojik reaktöründe (test reaktör), glikoz-2,4-DKF karışımının arıtma performansının incelendiği bu çalışma, biyosurfaktanların 2,4-DKF'ün ayrışmasını hızlandırdığını ortaya koymaktadır.

Test reaktöründe; 2,4-DKF konsantrasyonu 30-100 mg/l arasında uygulandığında 2,4-DKF arıtım verimi %99.7-99.8 arasında ve 2,4-DKF çıkış

konsantrasyonu 0.06-0.2 mg/l arasında değişmiştir. Biyosurfaktan uygulanmasından dolayı, bu periyot boyunca inhibasyon etkisi gözlenmemiş, MLSS konsantrasyonu azalmamıştır. Biyosurfaktan mevcudiyeti bakteriyel büyümeyi artırmıştır. Biyosurfaktan eklenmesi sistem performansını geliştirdiğinden dolayı, 2,4-DKF ve KOİ için arıtım verimleri kontrol reaktöründen daha yüksek olmuştur. 2,4-DKF konsantrasyonu 100 mg/l'den 150 mg/l'ye artırıldığında, mikroorganizmalar 2,4-DKF toksisitesinden etkilenmişler ve 2,4-DKF arıtım verimi %32.9'a düşmüştür. Bu durum 150 mg/l değerlerine ulaşıldığında 2,4-DKF'ün toksisite etkisinin ortaya çıktığını göstermektedir.

Kontrol reaktöründe; 2,4-DKF konsantrasyonu 30-100 mg/l arasında uygulandığında 2,4-DKF arıtım verimi %97.4-97.7 arasında ve 2,4-DKF çıkış konsantrasyonu 0.1-2.6 mg/l arasında değişmiştir.



Şekil 4. Başlangıç 2,4-DKF konsantrasyonuna karşılık çıkış KOİ konsantrasyonlarının karşılaştırılması

Bu çıkış konsantrasyonları test reaktörüne göre daha yüksektir. Test reaktörü, biyosurfaktanın pozitif etkisinden dolayı daha düşük çıkış konsantrasyonları vermiştir.

2,4-DKF konsantrasyonu 100 mg/l'ye artırıldığında, MLSS konsantrasyonunda hızlı bir düşüş gözlenmiştir. 100 mg/l'den 150 mg/l'ye artırıldığında, mikroorganizmalar 2,4-DKF toksisitesinden etkilenmişler ve 2,4-DKF arıtım verimi %24.2'ye düşmüştür.

KAYNAKLAR

Armenante, P.M., Kafjewitz, D., Lewandowski, A., Jou, C. (1999) Anaerobic-Aerobic Treatment of Halogenated Phenolic Compounds, *Wat. Res.*, **33** (3), 681-692.

Bognolo, G. (1999) Biosurfactants as Emulsifying Agents for Hydrocarbons, A: *Physicochemical and Engineering Aspects*, **152**, 41-52.

Cort, T.L., Song, M., Bielefeldt, A.R. (2002) Nonionic Surfactant Effects on Pentachlorophenol Biodegradation, *Wat. Res.*, **36**, 1253-1261.

Diehl, S.V., Borazjani, A. (1998) Enhanced Biodegradation of Organic Wood-Preservative Contaminated Wastewater by Commercial Surfactants, Technical Completion Report, Water Resources Research Institute Mississippi State University, Mississippi State, Mississippi.

Ettala, M., Koskela, J., Kiesila, A. (1992) Removal of Chlorophenols in a Municipal Sewage Treatment Plant Using Activated Sludge, *Wat. Res.*, **26** (6), 797-804.

Field, J.A., Stams, A.J.M., Kato, M., Schraa, G. (1995) Enhanced Biodegradation of Aromatic Pollutants in Cocultures of Anaerobic and Aerobic Bacterial Consortia, *Antonia Van Leeuwenhoek*, **67**, 47-77.

Ha, S.R., Qishan, L., Vinitnantharat, S. (2000) COD Removal of Phenolic Wastewater by Biological Activated Carbon-Sequencing Batch Reactor in the Presence of 2,4-DCP, *Wat. Sci. Tech.*, **42** (5-6), 171-178.

Jarvinen, K.T., Melin, E.S., Puhakka, J.A. (1994) High-rate Bioremediation of Chlorophenol-Contaminated Groundwater at Low Temperatures, *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 2387-2392.

Kennes, C., Wu, W.M., Bhatnagar, L., Zeikus, J.G. (1996) Anaerobic Dechlorination and Mineralization of Pentachlorophenol and 2,4,6-Trichlorophenol by Methanogenic Pentachlorophenol-Degrading Granules, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **44**, 801-806.

Krumme, M.L., Boyd, S.A. (1988) Reductive Dechlorination of Chlorinated Phenols in Anaerobic Upflow Bioreactors, *Wat. Res.*, **22**, 171-177.

Puhakka, J.A., Makinen, P.M., Lundin, M., Ferguson, J.F. (1994) Aerobic and Anaerobic Biotransformations and Treatment of Chlorinated Pulp Bleach Waste Constituents, *Wat. Sci. Tech.*, **29** (5-6), 73-80.

Puhakka, J.A., Melin, E. S., Jarvinen, K.T., Koro, P.M., Rintala, J.A., Hartikainen, P., Shieh, W.K., Ferguson, J. (1995) Fluidized-Bed Biofilms for Chlorophenol Mineralization, *Wat. Sci. Tech.*, **31** (1), 227-235.

- Quan, X., Shi, H., Liu, H., Lv, P., Qian, Y. (2004) Enhancement of 2,4-Dichlorophenol Degradation in Conventional Activated Sludge Systems Bioaugmented with Mixed Special Culture, *Wat. Res.*, **38**, 245-253.
- Raung, K.D. (1984) Theory and Practise for the Removal of Phenols in Wastewater , Industrial Pollution Prevention and Control, **3**, 88-103.
- Thangamani, S., Shreve, G.S. (1994) Effect of Anionic Biosurfactant on Hexadecane Partitioning in Multiphase Systems, *Environ. Sci. Technol.*, **28** (12), 1994-2000.
- Valo, R.J., Haggblom, M.M., Salkinoja-Salonen, M. (1990) Bioremediation of Chlorophenol Containing Simulated Ground Water by immobilized Bacteria, *Wat. Res.*, **24** (2), 253-258.
- Wang, S.J., Loh, K.C. (2000) New Cell Growth Pattern on Mixed Substrates and Substrate Utilization in Cometary Transformation of 4-chlorophenol, *Wat. Res.*, **34** (15), 3786-3794.
- Xiangchun, Q., Hanchang, S., Yongming, Z., Jianlong, W., Yi, Q. (2003) Biodegradation of 2,4-Dichlorophenol in an Air-lift Honeycomb-like Ceramic Reactor, *Process Biochemistry*, 00, 1-7, (basimda).
- Zhang, C., Valsaraj, K.T., Constant, W.D., Roy, D. (1998) Nutrient and Surfactant Enhancement for the Biodegradation of Chlorinated Hydrocarbons in the Wastewater from a Louisiana Superfund Site, *Journal of Hazardous Materials*, **62**, 41-58.