تأثير تركيز الكربون العضوي ودرجة الحرارة على كفاءة البكتريا في عملية إزالة التلوث العضوي من مياه الصرف الصحي

رفيق المبروك الحسناوي [1,2]، خليل أبو القاسم محمد[1]، عبدالرحمن سعد السويح[2]، خالد إبرهيم الدهماني[2]

سعدالدين محمد بلعيد[2]، أحمد شعبان أغا[2]

[1] كلية العلوم، جامعة الزيتونة، سوق الأحد، ليبيا

[2] مركز بحوث التقنيات الحيوية، الطويشة–طرابلس، ليبيا

الملخص

لتحديد تأثير التغير في تركيز الكربون العضوي ودرجة حرارة مياه الصرف الصحي على قدرة السلالات البكترية في تكسير المادة العضوية تم حقن المعلق البكتيري المتميز بالكفاءة العالية في المعالجة إلى مياه صرف اصطناعية تحتوي على تراكيز مختلفة من المادة العضوية. خلال عملية الحضن في دراجات حرارة تراوحت بين20–40 درجة مئوية تم تحديد معدل التكسير الحيوي من خلال قياس التغير في تركيزالكربون العضوي الكلي (TOC). أظهرت نتائج الدراسة أن كفاءة إزالة الكربون العضوي تتراوحت بين 73–87% للبكتريا التجارية المعروفة بـ "SludgeHammer" بينما كفاءة إزالة الكربون العضوي من مياه الصرف وجدت تتراوح بين 60–82% عندما حقنت بـ *Bacillus subtilis* *وتتراوح بين 68-83% عندما حقنت بـ* *Pseudomonas aeruginosa*. ايضاً، أظهرت نتائج الدراسة أن عند إنخفاض أو زيادة درجة الحرارة مما قيمته 10°م قد أثر ذلك سلباً على كفاءة إزالة المادة العضوية حيث وجدت بأنها تراوحت بين 75–79% عند درجة حرارة 30°م 40°م بينما تدنت الكفاءة إلى مستوى معنوي عند درجة حرارة 20°م حيث وجدت لا تتجاوز 50% مع كل من بكتريا "SludgeHammer" و *Pseudomonas aeruginosa*، *Bacillus subtilis*.

المقدمة

تشهد مدن ليبيا وبالأخص مدينة طرابلس وضواحيها في العقدين الأخيرين تطوراً صناعياً غير منظم، فلا تخلو منطقة إلا وفيها منشات صناعية تختلف في النوع و الحجم تقوم في اغلب ألاحيان بصرف مخلفاتها بشكل مباشر وبدون معالجة في شبكات مياه المجاري العامة الأمر الذي قد يؤدي إلى إرباك في عمل محطات الصرف الموجودة حالياً وبالأخص وحدات المعالجة الحيوية. يوجد عدد كبير من الانواع البكتيرية التي تستخدم في تحسين عمل وحدات معالجة مياه الصرف البيولوجية؛ منها ما يتميز بكفاءته العالية ومنها ما يتميز بكفاءته النسبية في إزالة الكربون– استناداً على مصدر الكربون وبعض العوامل الأخرى– لذا فمن الضرورة بمكان معرفة هذه الانواع التي تتصف بالكفاءة العالية والنوعية وبالتالي عزلها وتنميتها بكميات مناسبة للاستفادة منها في

التطبيقات العملية المختلفة تبعاً لنوعية مياه الصرف المراد معالجتها. أجريت دراسات عديدة في هذا الجانب، ففي دراسة قام بها Chen *et al.* (2009) عن قدرة بعض من الأنواع البكتيرية على إزالة الكربون العضوي لمياه صرف صحي تحتوي على 200 ملغم/لتر من TOC ووجد ان جميع الأنواع البكتيرية المضافة في صورة منفردة لها قدرة متفاوتة على إزالة TOC تتراوح ما بين 55 – 72% حيث سجلت أعلى قدرة لإزالة TOC لبكتريا *Enterobacter cloacae* وأقل قدرة سجلت لبكتريا *Bacillus sp*. ومن المتعارف عليه ان البكتريا تعمل أفضل عندما تكون بشكل متكافئ عنه عندما تكون بشكل منفرد، لذا قام الباحث بحقن عينة من المياه بـ 600 مللتر مركبة من مجموعة من 3 انواع من البكتريا (أظهرت أكثر كفاءة في إزالة TOC) التالية: *Enterobacter cloacae*، *Gordoina*، *Pseudomonas putida* وعينة أخرى حقنتً بـ 600 ملي لتر مركبة من مجموعة من 6 انواع من البكتريا التالية: *Enterobacter cloacae*، *Gordonia*، *Pseudomonas putida*، *Agrobacterium* sp، *Bacillus sp.*، *Pseudomonas stutzeri* وجد ان المجموعة الأخيرة أظهرت اقل كفاءة (77%) في إزالة TOC مقارنة بالمجموعة الأولى والتي أظهرت كفاءة تزيد عن 84%. عموماً، تبين من نتائج هذه الدراسة ان زيادة القدرة البكتيرية لمياه الصرف الصحي سوف تعمل على زيادة قدرة إزالة محتوى التلوث العضوي بنسبة تتراوح ما بين 12–15% مقارنة بعينة مياه الصرف المرجعية. وفي دراسة أخرى متشابهة لـ Ma *et al.* (2009) عن مدى قدرة إضافة سلالات بكترية طبيعية على التقليل من التلوث العضوي من مياه صرف بترو كيميائية وجد ان كل من تركيز الأكسجين المتطلب الكيميائي (COD)، وآمونيا النيتروجين (NH3-N) انخفض من 320–530 ملغم/لتر و 8–25 ملغم/لتر، على التوالي إلى أقل من 80 ملغم/لتر لـ COD و 10 ملغم/لتر لـ NH3-N بعد 20 يوم من المعالجة بينما عند تلك العينة المرجعية تم الحصول على نتائج متشابهة ولكن بعد فترة زمنية تفوق 30 يوم. كذلك أظهرت نتائج هذه الدراسة ان تأثير الزيادة في الحمل العضوي المفاجئ (من 0.6–1.1 كجم/م^3) على كفاءة إزالة CODانخفض بنسبة 50% من تلك العينة المرجعية التي لم تستقبل إضافات بكتيرية. وفي دراسة أخرى قام بها Hisashi *et al.* (2000) عند حقن مياه الصرف الصحي بخليط مركب من 3 انواع من بكتريا ضوئية التمثيل: *Rhodobacter sphaeroides* S، *Rb. sphaeroides* NR-3، *Rhodopseudomonas palustris* وجد ان 89% و 99% و 77% من المحتوى العضوي (TOC) والنترات و الفوسفات تم إزالتها، على التوالي وبقدرة تفوق 10% من تلك التي تم حقنها بسلالات بكترية بشكل منفرد. دراسات أخرى أيضا وجدت بإضافة مستعمرات بكتيرية وبشكل منفردة من *Pseudomonas spp.*، (تم عزلها من الحماة المنشطة)، أو *Bacillus Spp.* (تم عزلها من تربة ملوثة بالزيوت النفطية) إلى مياه الصرف زادت من قدرة وحدة المعالجة البيولوجية على إزالة الكربون العضوي الكلي (TOC) و متطلب الأكسجين الكيميائي (COD) والفينول الكلي من مياه صرف معاصر الزيتون و مياه صرف السلخانات و مياه الصرف الصحي وبقدرة تفوق 30% من تلك العينة المرجعية (Qu *et al.* 2011, Tuo *et al.* 2011 Fadil *et al.* 2003). التغير في درجة حرارة مياه الصرف الصحي قد يكون له تأثيرات سلبية على قدرة إزالة البكتيريا للملوثات العضوية حيث وجد Yaun *et al.* (2013) ان كفاءة إزالة COD. تراوحت بين 80 – 98.0% عند درجات حرارة بين 13–33م° خلال 10 اسابيع من المعالجة وانخفض معدل الإزالة إلى ادني مستوى (65%) عند درجة حرارة اقل من 10 م°. وفي دراسة أخرى لـ McKeown *et al.*(2012) وجد ان متوسط إزالة COD إنخفضت من 65% عند درجة حرارة 21م° إلى أقل من

50% عند درجة حرارة 14 م°.

ورغم ان كثير من المعلومات الخاصة بميكانيكية الهدم الميكروبي للمواد الكربوهيدراتيه والدهون أصبحت معروفة إلا ان هناك معلومات قليلة نسبياً على قدرة البكتريا في صورة منفردة اومختلطة عن تحسين هدم هذه المواد وما مدى قدرتها على التقليل من تأثير التغير في تركيز ومصدر الكربون العضوي ودرجة حرارة مياه الصرف على كفاءة عمل وحدة المعالجة البيولوجية. لذا سوف نحاول في هذه الدراسة تحديد ما مدى تأثير التغير في تركيز الكربون العضوي ودرجة حرارة مياه الصرف على قدرة البكتيريا على إزالة المادة العضوية.

مواد وطرق البحث

تحضير الكتلة الحيوية

في هذه الدراسة تم استخدام ثلاثة انواع بكتيرية أظهرت في دراسة معملية سابقة قام بها Hesnawi *et al.* (2014) قدرة متميزة في رفع مستوى كفاءة إزالة الكربون العضوي الكلي (TOC) من بين 9 أنواع بكتيرية وجدت سائدة ومنتشرة في حوض المعالجة البيولوجية لمياه الصرف ، هذه البكتيريا شملت كل من *Bacillus subtilis*، *Pseudomonas aeruginosa* بالإضافة إلى مجموعة البكتيريا التجارية المعروفة بـ""SludgeHammer". للحصول على كتلة حيوية مناسبة تم حضن البكتيريا عند درجة حرارة 37 مْ و عند وصول النمو البكتيري إلى نهاية الطور الأسي (ملاحظته من خلال تكوين العكارة) تم حصد الخلايا باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 4000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق. بعد ذلك تم سكب الوسط السائل في انابيب محكمة وجمع الكتلة الحيوية وإعادة هذه العملية لكل نوع بكتري حتى الحصول على الكمية المناسبة للدراسة. بعد الحصول على الكمية المناسبة تمت عملية غسل لهذه الكتل الحيوية باستخدام محلول مائي معقم وباستخدام جهاز الطرد المركزى مرة أخرى للتخلص من اى مركب عضوى متبقى من الوسط المستخدم لنمو السلالات البكتيرية. تم إستخدام المحلول القياسي المعروف بـ McFarland Standards لقياس درجة عكارة المعلق البكتيري بأستخدام جهاز قياس العكارة عند الطيف الموجى (OD600) 600nm . قبل عملية التلقيح تم تعديل عكارة طور النمو لكل معلق بكتيري (حسب ماورد اعلاه مرة أخرى) حتى الوصول إلى اقصى معدل للنمو.

تحضير العينة الإصطناعية لمياه الصرف

لتحضير عينة اصطناعية مشابهة لعينة مياه الصرف الصحي تم إضافة المكونات التالية إلى المياه المقطرة وفق التقديرات التالية وحسب ماورد عن Chen *et al.* (2009) (غرام/لتر):- Glucose(7.5)، NH_4Cl(1.5)، K_2HPO_4(0.02)، KH_2PO_4(0.2)، $MgSO_4.7H_2O$(0.25)، $CaCl_2.2H_2O$(0.3). في هذا المحلول المحضر كان تركيز الأكسجين المتطلب الكيميائي (COD) 8 غرام/لتر، النيتروجين الكلي (TN) 0.4 غرام/لتر، أما الفسفور 0.08 غرام/لتر. بعد ذلك تم حفظ المحلول في الثلاجة عند درجة حرارة 4 م° ثم خفف إلى التركيز المرغوب فيه و استخدم كعينة مياه صرف في التجارب اللاحقة. أضيف إلى كل لتر من المحلول المحضر 0.5 مليلتر من المعادن النادرة والتي تتألف من المكونات

الآتية (ملغم/لتر): $H_3BO_3(50)$، $ZnCl_2(50)$، $CuCl_2(30)$، $MnSO_4.H_2O(50)$، $CoCl_2.H_2O(50)$، $(NH_4)_2MoO_{24}.H_2O(50)$ وتم ضبط درجة تركيز الأس الهيدروجين في العينة الاصطناعية عند الدرجة 7.0 وذلك بإضافة محلول $NaHCO_3$.

تحديد تأثير التغير في تركيز الكربون العضوي على التحلل الحيوي

للحصول على تراكيز مختلفة من الـ TOC تم تخفيف محلول مياه الصرف الأصطناعية بنسبه مختلفة بحيث يتراوح التركيز التصميمي الـ TOC في المحلول المخفف بين 100–300 ملغم/لتر. عند هذه التركيزات وجد ان التركيز الكلي للنيتروجين (TN) في المحلول المخفف تراوح بين 21–74 ملغم/لتر، بينما تركيز الفسفور الكلي (TP) في المحلول المخفف تراوح 1.8 – 7.4 ملغم/لتر. تم تقسيم كل تخفيف من مياه الصرف الاصطناعية الى ثلاث مكررات. لقح كل مكرر، بعد نقله في دوراق زجاجية بسعة 250مللتر، بكل من بكتيريا *SludgeHammer*، بكتيريا *Pseudomonas Aeruginosa* ، و بكتيريا *Bacillus Subtilis*. مع عمل نماذج سيطرة(control) بدون تلقيح لكل مجموعة. حجم العينة المستخدم في عمليات المعالجة الحيوية هو 200 مللتر بينما حجم الكتلة الحيوية المستخدم هو 8 مللتر بما يعادل 4% من الحجم الكلي للعينة. درجة عكارة المعلق البكتيري(NTU) لكل من بكتريا *P.aeruginosa* ، *B.subtilis* و مجموعة "SludgeHammer" قبل عملية الحقن تساوي تقريبا 496.0 (تقريبا 10^9 خلية بكترية). وضعت الدوارق في حاضنة هزازة بسرعة 150 دورة/دقيقة بدرجة حرارة 30 مئوية لمدة 18 ساعة. خلال فترة الحضن تم قياس كل من الكربون العضوي الكلي، العكارة ، درجة تركيز ايون الهيدروجين ، الأكسجين الذائب و درجة حرارة المحلول.

تحديد تأثير التغير في درجة الحرارة على معدل النمو والتحلل الحيوي

قسمت هذه المرحلة من الدراسة إلي مرحلتين – المرحلة الأولى اهتمت بالكشف عن أفضل درجات حرارة للنمو بينما اهتمت المرحلة الثانية عن الكشف على معدل النمو وكفاءة تحلل المادة العضوية في ميا الصرف.

مرحلة الكشف عن أفضل درجات حرارة للنمو البكتيري

في هذه المرحلة، وتحت ظروف بيئية مناسبة وثابتة، تم تنشيط البكتيريا في الوسط الغذائي (nutrient broth) وتحضينها في درجة حرارة 37 مئوية لمدة 24 ساعة. بعد ذلك تم زراعة هذه البكتيريا في الوسط الغذائي (nutrient agar) بطريقة النشر وتحضينها في درجات حرارة مختلفة (10, 15, 20, 30, 40, 45) واستخدمت درجة حرارة 37 مئوية كدالة على معدل التغير في كثافة النمو وذلك عن طريق حساب العدد الكلي. درجة الحرارة التي لم تظهر عندها او اظهرت مستعمرات بكترية اقل من 30 مستعمرة وبعد فترة نمو تجاوزت 72 ساعة تم استثنائها من هذه المرحلة من الدراسة. بعد عملية الحضن في دراجات حرارة مختلفة تم حصد وتجميع الخلايا البكتيرية بشكل منفصل من كل نوع من الانواع البكتيرية الى قوارير زجاجية محتوية على وسط غذائي تم حضن البكتيريا حتى الوصول النمو البكتيري إلى نهاية الطور الأسي.

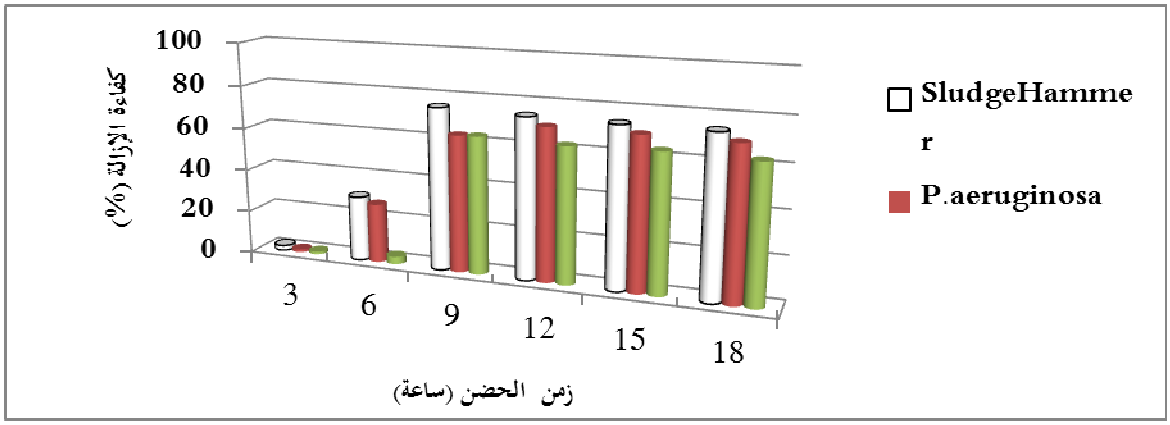
مرحلة الكشف على معدل النمو وكفاءة التحلل الحيوي

بعد عملية التنشيط للبكتيريا تم حقن 8 مليلتر من كل معلق بكتيري بشكل منفرد أو مختلط إلى 200 مللتر من مياه صرف إصطناعية تحتوي على 300 ملغرام / لتر TOC وفي دوارق سعتها 250 مللتر. وضعت الدوارق في حاضنة هزازة بسرعة 150 دورة/دقيقة وعند درجة حرارة 20، 30، 37، 40 مْ و لمدة اسبوع لكل درجة حرارة. تم سحب العينات كل ساعتين خلال 18 ساعة الأولى ومن ثم بعد كل 24 ساعة ولحين توقف عملية النمو البكتيري و التحلل الحيوي. تم تحديد معدل النمو بدلالة الكثافة الضوئية (العكارة) عند طول موجي 600 نانومتر والكربون العضوي الكلي (TOC) باستخدام جهاز نوع Hach DR 2800 عند طول موجي 440 نانومتر. أيضاً تم قياس وتعديل كل من درجة pH و الأكسجين المذاب (DO) كل ساعتين وتعديلهما عند الضرورة بحيث لا تقل قيمة كل منهما عن 6.5 و 3.5 على التوالي.

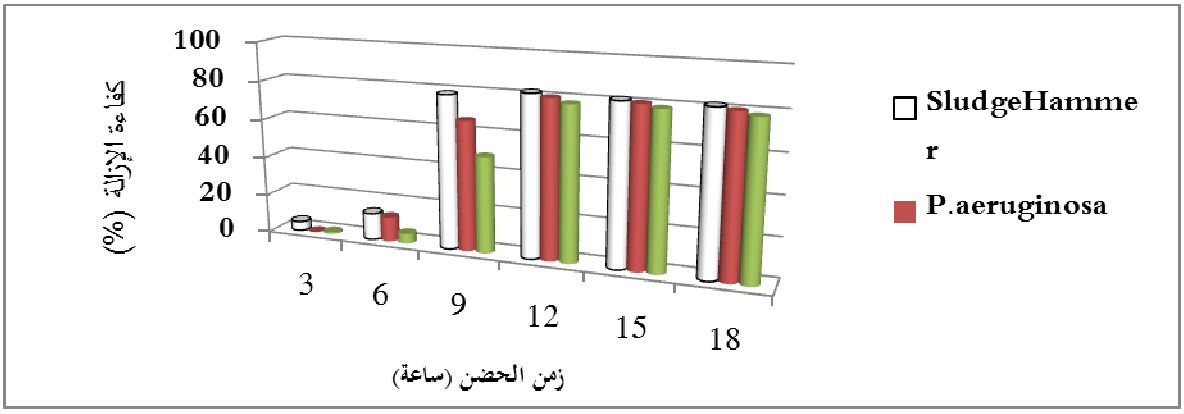
النتائج والمناقشة

تأثير تركيز الكربون العضوي على كفاءة البكتريا

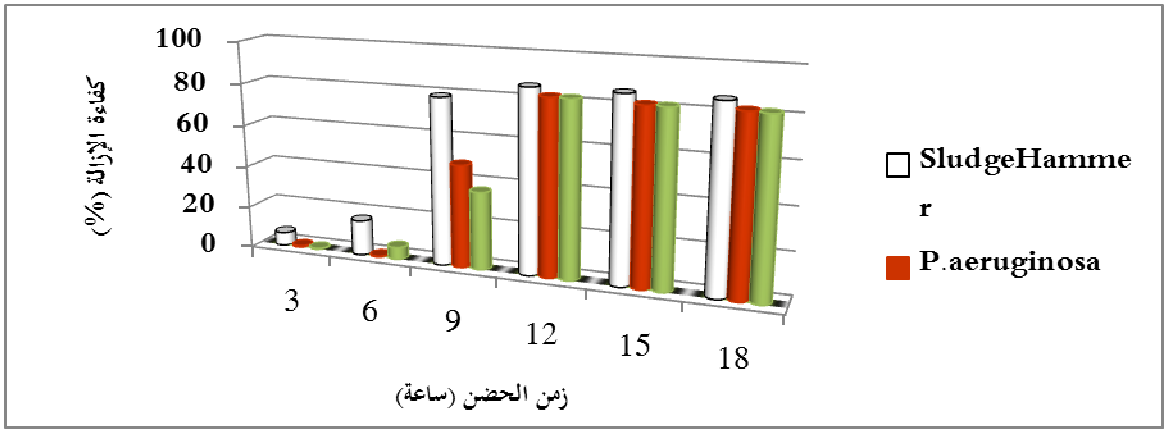
عند حقن البكتريا في مياه صرف تحتوي على 80 ملغم/لتر من المادة العضوية وجد ان مجموعة "SludgeHammer" لها أكثر فعالية في معالجة مياه الصرف، حيث وجد نسبة إزالتها وصلت إلى 73% كما وصلت سرعة تفاعلها الى ($0.111h^{-1}$ μ_{max}) بعد 18 ساعات من الحضن (أنظر الشكل رقم 1 و الجدول رقم 1). بالإضافة إلى ذلك فان كل من زمن التكيف مع البيئة الغذائية (T_{lag}) وزمن الوصول الى طور الثبات (Ts) لهذه المجموعة البكتيرية التجارية قصير جداً حيث وجد يساوي 2 و 9 ساعات على التوالي. كما حققت البكتيريا اكبر كثافة عددية عند مقارنتها مع نوعي البكتيريا الآخرين مما يدل على نموها السريع. إذاً من المتوقع عند زراعة الانواع البكتيرية الثلاثة في مزرعة بكتيرية واحدة فانه ستكون لبكتيريا "SludgeHammer" السيادة على النوعين الآخرين من البكتيريا وذلك للمدة القصيرة لكل من الـ T_{lag} ، Ts. عند مقارنة هذه البكتريا التجارية مع بكتيريا المعزولة محلياً "*Pseudomons aeruginosa*" وجد الأخيرة كذلك تتميز بنسبة إزالة للمادة العضوية تصل الى 68% والتي لا تختلف معنويا مع مجموعة بكتريا "SludgeHammer". عند النظر الى المتغيرات h^{-} (0.076^{1}) μ_{max} ، (12 h) Ts، (2h) T_{lag} قد لا تكون للبكتيريا السيادة المطلقة عند زراعة الانواع البكتيرية الثلاثة في مزرعة واحدة ولكن تستطيع النمو في البيئة التي لا تتوفر فيها المادة الغذائية بالشكل المطلوب (أنظر الشكل رقم 1 و الجدول رقم 1). للنوع الأخر من البكتيريا دور مهم في عملية التحول الحيوي للمادة العضوية عند تركيز منخفض من المادة العضوية، فوجد أن *Bacillus subtilis* قدرة، بالرغم هي الأقل مقارنة مع النوعين الأخرين، على إزالة المادة العضوية والتي بلغت 60%. لكن عند النظر إلى القيم المتدنية للمتغيرات μ_{max} ، q_{max}، Ts ، T_{lag} فان دور هذه البكتيريا في عمليات المعالجة الحيوية قد يكون محدوداً و لا تستطيع هذه البكتيريا تحقيق السيادة على النوعين الاخرين من البكتيريا. عند زيادة تركيز الكربون العضوي من 80 ملغرام /لتر إلى 160ملغم/لتر ومن ثم إلى 260 ملغم/لتر لم تحدث اي إختلافات معنوية في قدرة الأنواع البكترية الثلاثة من حيث قيم μ_{max}، r_{max}، q_{max}.



(أ)



(ب)



(ج)

شكل رقم (1). تأثير تركيز الكربون العضوي على كفاءة إزالة البكتيريا: (أ) منخفض؛ (ب) متوسط؛ (ج) مرتفع

جدول رقم (1). مقارنة بين معايير تقيم كفاءة المعالجة الحيوية للبكتيريا عند تراكيز مختلفة من الكربون العضوي (مع حدود ثقة 95%)

Sludge Hammer	Bacillus subtilis	Pseudomonas aeruginosa	المعايير
عند تركيز 80 ملغم/لتر			
2	2	2	T_{lag}(h)
0.008	0.008	0.010	$L_{initial}$
0.050b	0.036a	0.039a	L_{max}
8	12	12	T_s (h)
0.111	0.077	0.076	μ_{max} (h^{-1})
73±3.4a	60±2.5a	±2.1a68	r_{max} (%)
9.85a	8.42a	8.32a	$\underline{q_{max}}$ (mgTOC/mgVSS.d)
عند تركيز 160 ملغم/لتر			
2	4	4	T_{lag}(h)
0.009	0.009	0.010	$L_{initial}$
0.077b	0.062a	0.065a	L_{max}
12	61	61	T_s (h)
0.087	0.071	0.069	μ_{max} (h^{-1})
82±4.3a	77±3.4a	78±1.7	r_{max}
9.72a	9.96a	9.0a	$\underline{q_{max}}$ (mgTOC/(mgVSS.d)
عند تركيز 260 ملغم/لتر			
1	2	2	T_{lag}(h)
0.008	0.009	0.009	$L_{initial}$
0.095b	0.076a	0.072a	L_{max}
12	15	15	T_s (h)
0.083	0.068	0.066	μ_{max} (h^{-1})
87±3.8a	82±4.0a	83±5.8a	r_{max}
13.58a	13.51a	14.66a	$\underline{q_{max}}$ (mgTOC/(mgVSS.d)

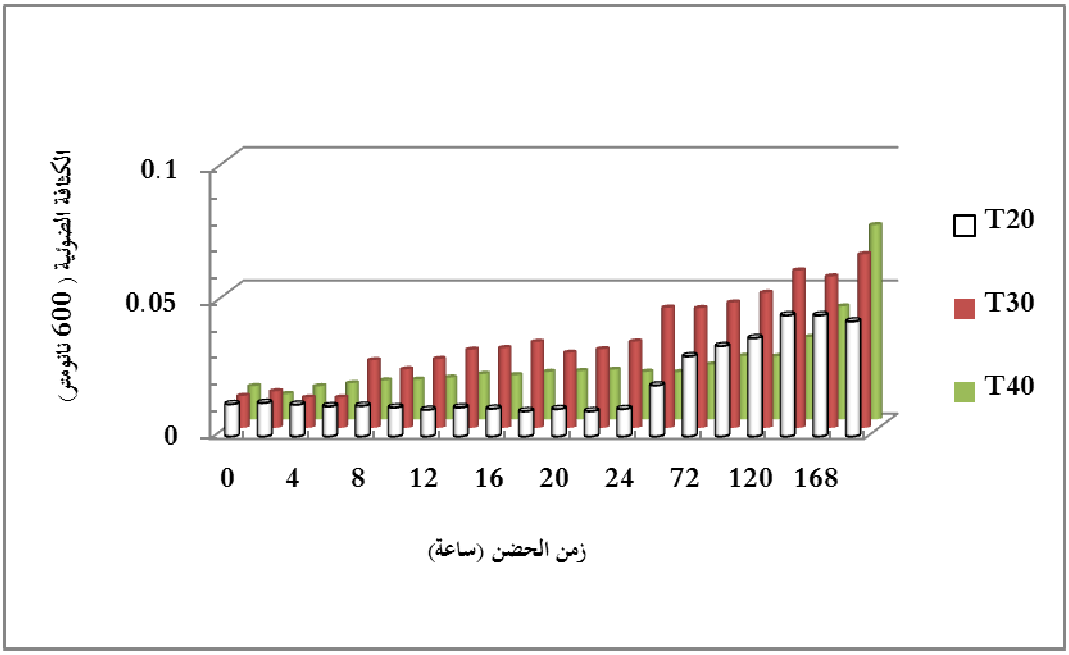
تأثير درجة الحرارة على كفاءة بكتريا B. subtilis

عند حضن البكتريا في مياه صرف عند درجة حرارة 20 °م لم يحدث نمو للبكتريا خلال الـ24 ساعة الأولى من الحضن (الشكل رقم 2). بعد فترة حضن طويلة تراوحت بين 48–264 ساعة ارتفعت الكثافة الضوئية إلى حوالي 3 أضعاف. عند نهاية فترة الحضن وصلت أقصى قدرة للبكتريا على إزالة TOC إلى حوالي 52% (الشكل رقم 3).أختلف ذلك تماما

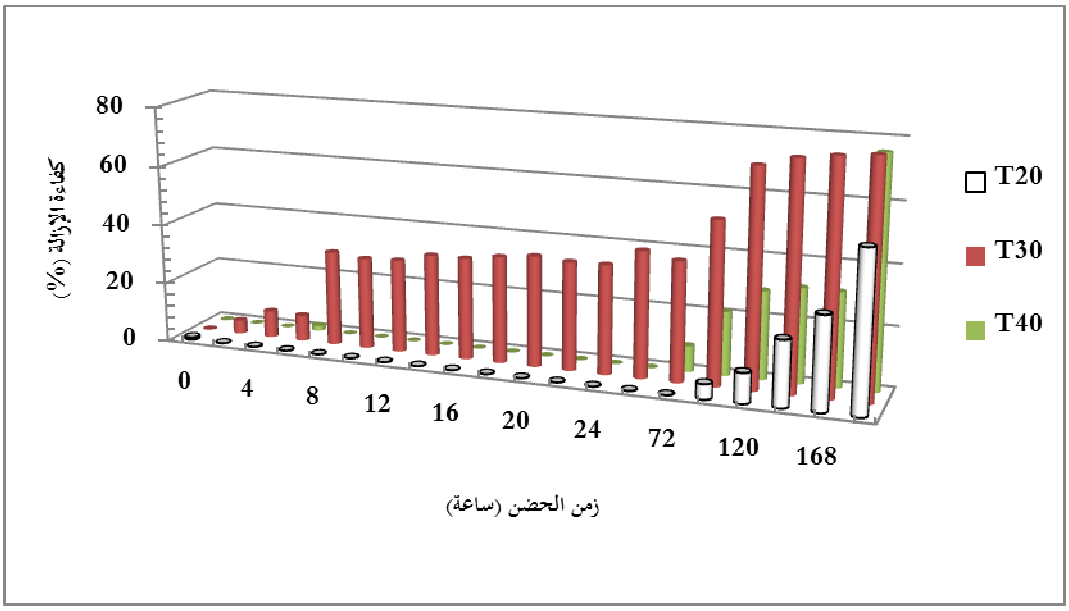
عند حضن البكتريا في مياه صرف عند درجة حرارة 30°م حيث حدث نمو للبكتريا خلال 8 ساعات الأولى من الحضن. خلال الفترة من 8-48 ساعة وصلت قدرة البكتريا لإزالة TOC إلى حوالي 32% ثم ارتفعت إلى 77% بعد فترة حضن تراوحت بين 72-120 ساعة واستقرت على تلك الكفاءة حتى نهاية فترة الحضن (264 ساعة). عند درجة حرارة 40 °م لم يحدث اي نمو للبكتريا خلال 48 ساعة من الحضن وكما هو الحال عند درجة حرارة 20°م. بعد فترة حضن تراوحت بين 72-264 ساعة أرتفعت الكثافة الضوئية تدريجيا إلى حوالي 5 أضعاف وارتفعت كفاءة البكتريا على إزالة TOC إلى 76%. عموماً عند درجة حرارة 20°م و 40°م استغرقت الخلايا البكتريا اكثر من 72 ساعة قبل ان تبدأ في عملية نشاطها الايضي خلافاً عند درجة حرارة 30°م والتي عندها استغرقت البكتريا 8 ساعات لتتأقلم على بيئة النمو. التغير في كثافة النمو عند انخفاض او زيادة في درجة الحرارة بما قيمته 10°م قد أثر على قدرة البكتريا على أكسدة المادة العضوية (TOC) حيث وجد ان المعدل الأقصى لأكسدة المادة العضوية (q_{max}) قد ارتفع حوالي 3 أضعاف من 2.16 إلى 6.24 (mgTOC/mgVSS.d) عندما ارتفعت درجة الحرارة من 20-30°م بينما انخفض ذلك المعدل بحوالي 1.5 مرة من 6.24 إلى 4.32 (mgTOC/mgVSS.d) عندما ارتفعت درجة الحرارة من 30- 40°م. بمعنى أخر وجد ان هناك إختلاف معنوي (p= 0.05) لقدرة البكتيريا على استخدام المادة العضوية عند درجة حرارة على النحو التالي: 30°م > 40°م > 20 °م.

تأثير درجة الحرارة على كفاءة بكتريا P.aeruginosa

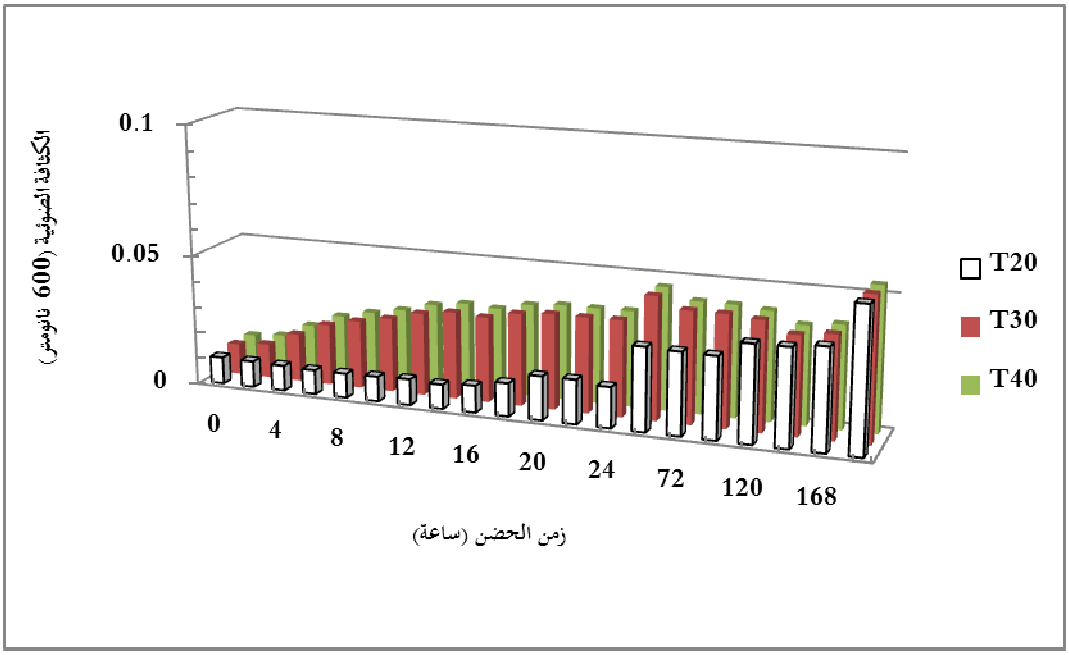
عند حضن البكتريا في مياه صرف عند درجة حرارة 20 °م استغرقت البكتريا اكثر من 16 ساعة في طور التأقلم على بيئة النمو (الشكل رقم4). بعد هذه الفترة بدء ظهور بطئ في قدرة البكتريا على النمو وصلت إلى أكثر من 3.0 أضعاف خلال 120 ساعة . بالرغم من هذا التضاعف في نمو البكتريا لم يظهر نقص في تركيز TOC إلا بعد 144 ساعة من الحضن والتي عندها بدأت البكتريا في إظهار قدرتها على تكسير TOC بمعدل 5 اضعاف وبزيادة في كفاءتها والتي بلغت حوالي 50% من التركيز الأولي (الشكل رقم 5). اختلفت هذه القيم تماما عند حضن البكتريا في مياه صرف عند درجة حرارة 30°م والتي لوحظ عندها زيادة سريعة وبنسبة تتراوح بين 10- 33% خلال الفترة بين 144 إلى 168 ساعة من الحضن. عند إستمرار فترة الحضن إلى 264 ساعة ارتفعت كثافة النم عن الكثافة الأولية بمعدل 5 اضعاف وبزيادة في كفاءة البكتريا على إزالة TOC بلغت حوالي 50% من التركيز الأولي. اختلفت ذلك تماما عند حضن البكتريا في مياه صرف عند درجة حرارة 30°م والتي لوحظ عندها زيادة سريعة في كثافة النمو تقريبا 3 أضعاف خلال الفترة تراوحت بين 4-24 ساعة. خلال تلك الفترة بلغت قدرة البكتريا على إزالة TOC من 10- 21%. بعد ذلك لوحظ زيادة كبيرة في كفاءة البكتريا على إزالة TOC بلغت حوالي 75% بعد 96 ساعة و لم يظهر بعد ذلك اي زيادة معنوية (p= 0.05) في معدلات النمو والإزالة حتى نهاية فترة الحضن (264 ساعة). عند حضن البكتريا في مياه صرف عند درجة حرارة 40°م زادت الكثافة الضوئية للنمو بحوالي 3 أضعاف الكثافة النمو الأولية للبكتريا خلال 72 ساعة الأولى من الحضن و مع هذا التضاعف في الكثافة لم يحدث اي تغير



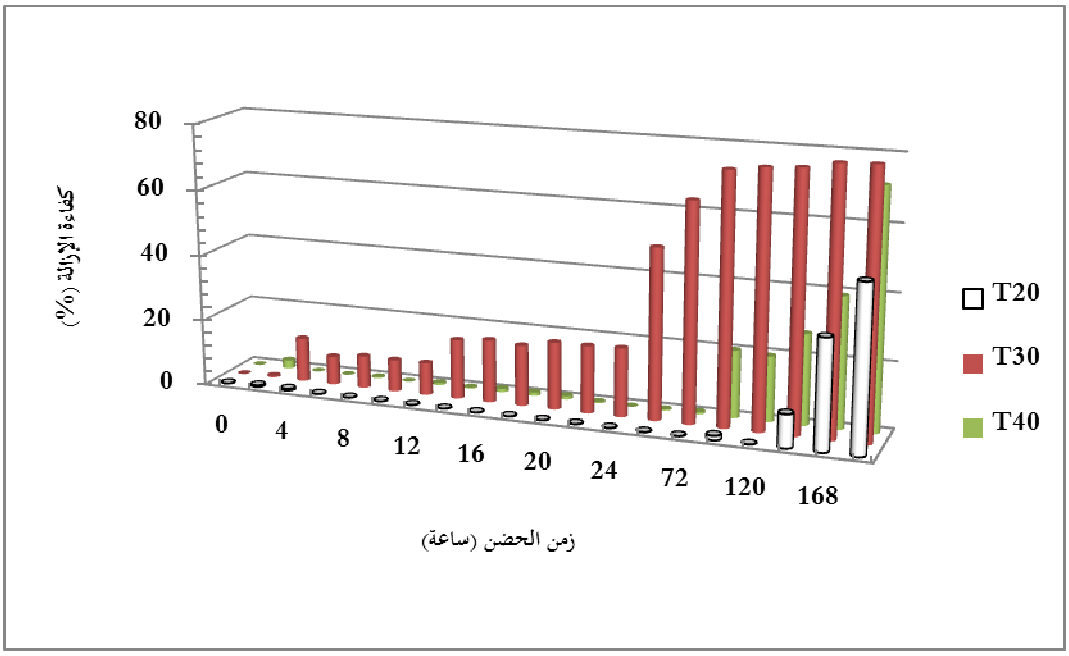
شكل رقم (2) . معدل نمو بكتريا *B.subtilis* عند دراجات حرارة مختلفة



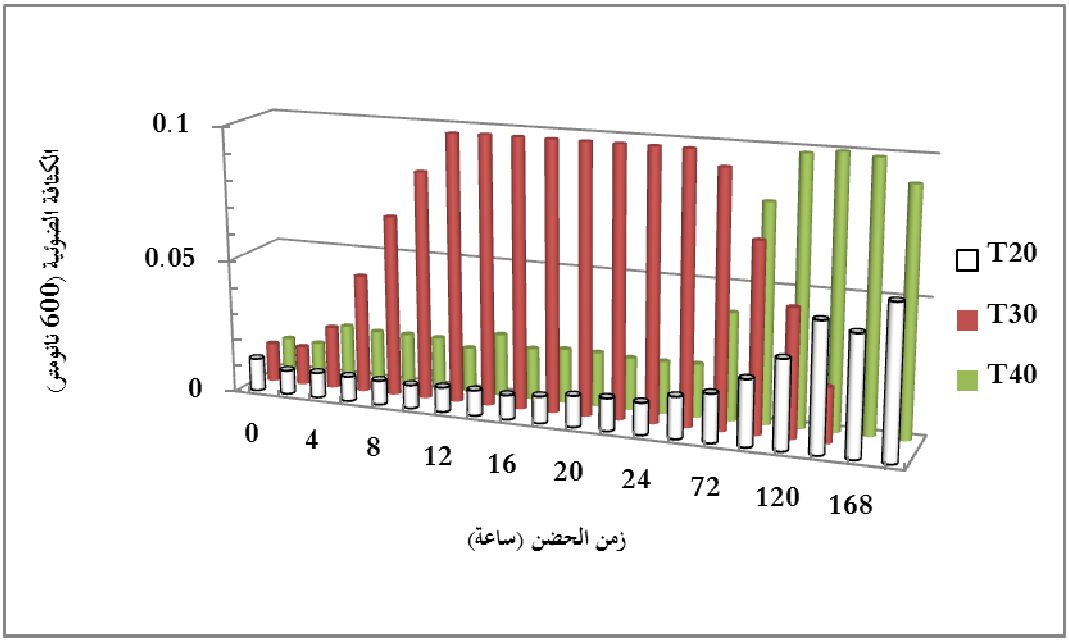
شكل رقم (3) . تأثير درجة الحرارة على كفاءة إزالة المادة العضوية من قبل *B.subtilis*



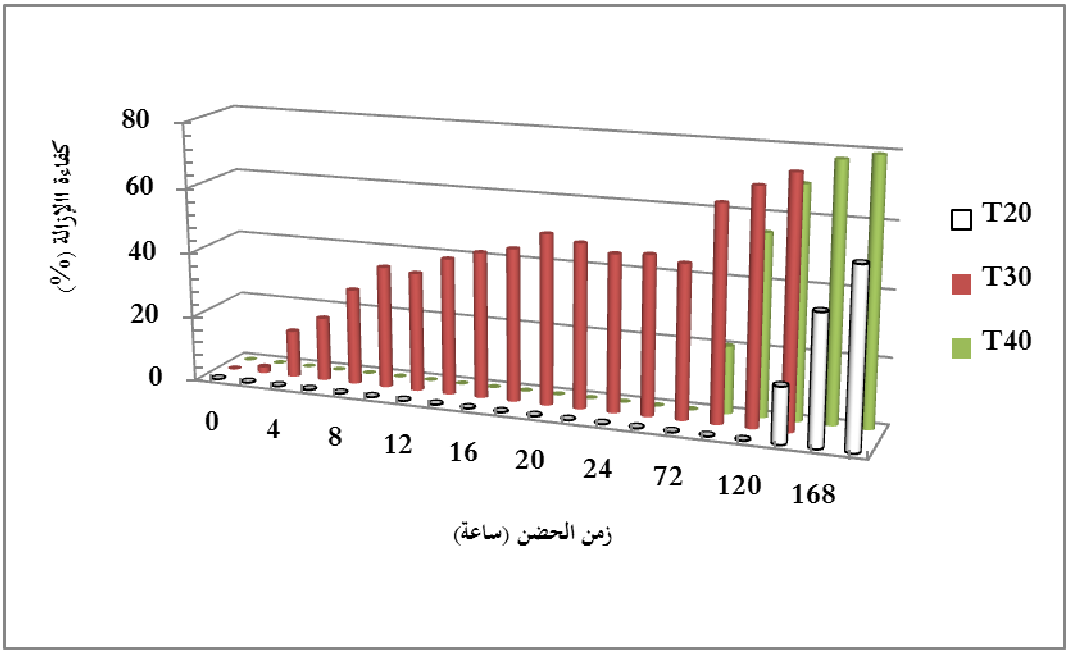
شكل رقم (4). معدل نمو بكتريا *P.aeruginosa* عند دراجات حرارة مختلفة



شكل رقم (5) . تأثير درجة الحرارة على كفاءة إزالة المادة العضوية من قبل *P.aeruginosa*



شكل رقم (6). معدل نمو بكتريا *SludgeHammer* عند دراجات حرارة مختلفة



شكل رقم (7) . تأثير درجة الحرارة على كفاءة إزالة المادة العضوية من قبل *SludgeHammer*

معنوي في تركيز TOC. بعد ذلك بدأت البكتريا في إظهار قدرتها على تكسير TOC وبنسبة تراوحت بين 20-39% خلال الفترة بين 96-168 ساعة. عند إستمرار فترة الحضن إلى 264 ساعة ارتفعت كثافة النمو بمعدل 5 أضعاف وبزيادة في

كفاءة البكتريا على إزالة لـ TOC بلغت حوالي 72% من التركيز الأولي

عند درجة حرارة 20°م استغرقت الخلايا البكتريا اكثر من 16 ساعة للتأقلم قبل ان تبدأ في عملية النمو خلافاً عند درجة حرارة 30°م و 40°م والتي عندها استغرقت البكتريا 4 ساعات لتنمو بكثافة عالية تفوق بحوالي 3 أضعاف عند تلك الكثافة عند درجة حرارة 20°م. الزيادة أو النقص في درجة الحرارة مما قيمته 10°م قد أثر ايضاً على العمليات الحيوية حيث وجد ان المعدل الأقصى لأكسدة المادة العضوية (q_{max}) قد ارتفع من 4.3 إلى 7.8 (mgTOC/mgVSS.d) و بمعدل 1.8 مرة عندما ارتفعت درجة الحرارة من 20-30°م و وانخفض بنفس المعدل عندما ارتفعت درجة الحرارة من 30-40°م. بمعنى أخر ان درجة الحرارة المثلى لإستخدام المادة العضوية كانت على النحو التالي: 30 °م > 40 °م ≥ 20°م.

تأثير درجة الحرارة على كفاءة بكتريا "SludgeHammer"

عند حضن البكتريا في مياه صرف عند درجة حرارة 20°م استغرقت البكتريا اكثر من 96 ساعة في طور التأقلم. بعد ذلك الوقت بدأت ظهور زيادة بطيئة في كثافة النمو بلغت حوالي 1.7 مرة من كثافة النمو الأولية خلال 120 ساعة (الشكل رقم 6). بالرغم من هذا التضاعف في نمو للبكتريا لم يظهر نقص في تركيز TOC إلا بعد 144 ساعة من الحضن والتي عندها بدأت البكتريا في إظهار قدرتها على تكسير TOC وبنسبة تراوحت بين 17-39 % خلال الفترة بين 144 إلى 168 ساعة من الحضن (الشكل رقم 7). عند إستمرار فترة الحضن إلى 264 ساعة ارتفعت كثافة النمو عن الكثافة الأولية للنمو بمعدل 3.5 اضعاف وبزيادة في كفاءة البكتريا على إزالة TOC بلغت حوالي 54% من التركيز الأولي. إختلفت القيم تماما عند حضن البكتريا في مياه صرف عند درجة حرارة 30°م والتي عندها ارتفعت كثافة النمو إلى 10 أضعاف بينما ارتفعت كفاءة البكتريا على إزالة TOC إلى حوالي 55% وفي مدة لا تتجاوز الـ20 ساعة. بعد ذلك لم يحدث اي زيادة معنوية في كفاءة الإزالة حتى نهاية 72 ساعة من الحضن. أقصى كفاءة بلغت 75% بعد 144 ساعة من الحضن. عند حضن البكتريا في مياه صرف عند درجة حرارة 40°م لم يكن هناك اي إختلاف معنوي في الكثافة الضوئية للنمو وكفاءة البكتريا على إزالة TOC خلال الـ 48 ساعة من الحضن. بعد هذه الفترة ارتفعت الكثافة الضوئية إلى 7 أضعاف الكثافة الضوئية الأولية وبزيادة في كفاءة البكتريا على إزالة TOC بلغت 77% بعد 168 ساعة. عند إستمرار فترة الحضن إلى 264 ساعة لم يحدث اي زيادة معنوية في كفاءة البكتريا على إزالة TOC. عند درجة حرارة 20°م و 40°م استغرقت الخلايا البكتريا اكثر من 96 ساعة للتأقلم قبل ان تبدأ في عملية النمو خلافاً عند درجة حرارة 30°م والتي عندها استغرقت البكتريا 6 ساعات لتنمو بكثافة عالية تفوق بحوالي 10 أضعاف عند تلك الكثافة عند درجة حرارة 20°م خلال نفس الفترة. الزيادة أو النقص في درجة الحرارة بما قيمته 10°م قد أثر على العمليات الحيوية للبكتريا حيث وجد ان المعدل الأقصى لأكسدة المادة العضوية (q_{max}) قد ارتفع بمعدل 3 مرات من 6.5 إلى 20.5 (mgTOC/mgVSS.d) عندما ارتفعت درجة الحرارة من 20-30°م و وانخفضت بمعدل 1.5 مرة عندما ارتفعت درجة الحرارة من 30-40°م. بمعنى أخر ان درجة الحرارة المثلى لإستخدام المادة العضوية كانت على النحو التالي: 30 > 40 > 20.

مقارنة الكفاءة بين السلالات البكتيرية عند دراجات حرارة مختلفة

عند مقارنة الأنواع البكتيرية الثلاثة وجد ان للبكتريا قدرة بطيئة على التأقلم للنمو كلما إرتفعت أو انخفضت درجة حرارة بيئة الحضن عن 30°م. عند درجة حرارة 30°م استغرقت السلالات البكتيرية اقل من 6 ساعات لتنمو بينما عند درجة حرارة 20°م و 40°م استغرقت كل من بكتريا "*SludgeHammer* " و *B. subtilis* للتأقلم وتنمو أكثر من 96 ساعة بينما استغرقت بكتريا *P.* aeruginosa اقل من 18 ساعة. التغير في قدرة تأقلم البكتريا مع التغير في درجة الحرارة لوسط النمو أثر على المعدل الأقصى لقدرة البكتريا على استخدام المادة العضوية (q_{max}) فوجد عند ارتفاع درجة الحرارة من 20°م إلى 30°م ارتفع المعدل الأقصى لإستخدام المادة العضوية بمقدار 3.1 مرة لبكتريا "*SludgeHammer* " و بمقدار 2.8 مرة لبكتريا *P.aeruginosa* بينما لبكتريا *B.subtilis* أرتفع بمقدار 1.8 مرة. عندما ارتفعت درجة الحرارة من 30°م إلى 40°م انخفض المعدل الأقصى لإستخدام المادة العضوية بمقدار1.5 مرة لكل من الأنواع البكترية الثلاثة. بمعنى أخر ان درجة الحرارة المثلى لإستخدام المادة العضوية كانت على النحو التالي: 30°م > 40°م ≥ 20°م. ذلك يتفق مع نتائج دراسة مراحل نمو االسلالات البكتيرية عن طريقة العدد الكلي للبكتريا عند دراجات حرارة تراوحت بين 10-45°م والتي اظهرت عندها هذه السلالات البكتيرية قدرة ضعيفة جداً (−) إلى ضعيفة (+) على استخدام المادة العضوية للنمو عند حضنها في وسط غذائي درجة حرارته أقل من 20°م، بينما أظهرت قدرة متوسطة (++) إلى ممتازة (+++) عند حضنها في درجة حرارة تراوحت بين 20-25°م و 30-45°م على التوالي، بإستثناء *P.*aeruginosa والتي وجدت أنها غير قادرة على النمو (−) عند حضنها في درجة حرارة 45°م.

بشكل عام، أظهرت نتائج الدراسة ان لدرجة الحرارة تأثير كبير على كفاءة المعالجة حيث وجد انه عند انخفاض او إرتفاع درجة الحرارة بما قيمته 10°م قد أثر ذلك على الكفاءة الكلية لإزالة المادة العضوية حيث وجدت أنها تراوحت بين 75-79% و 72-79% عند درجة حرارة 30°م و 40°م على التوالي بينما تدنت الكفاءة إلى مستوى معنوي عند درجة حرارة 20°م حيث وجدت أنها لا تتجاوز 50% مع كل من الانواع البكترية الثلاثة. بالرغم من ان ليس هناك إختلاف معنوي بين الكفاءة الكلية لإزالة المادة العضوية وانها تقريبا متساوية بين الأنواع البكتيرية الثلاثة عند نفس درجة الحرارة، وجد هناك إختلاف معنوي بين المعدل الأقصى لإزالة المادة العضوية حيث وجد ان المعدل الأقصى لإزالة المادة العضوية كان على النحو التالي: مجموعة SludgeHammer < *Pseudomonas aeruginosa* < *Bacillus subtilis*.

الإستنتاجات

نتائج الدراسة اوضحت ان عند حقن انواع بكترية متميزة لوحدة معالجة مياه الصرف الصحي سوف تعمل ليس فقط على الرفع من كفائتها النهائية لإزالة المحتوى العضوي ولكن سوف تعمل على الزيادة في سرعة البدء في عملية التحول الحيوي للمادة العضوية داخل حوض المعالجة.

المراجع

Chen Y., Lin, C.J., Jones G., Fu S., Zhan H. (2009). Enhancing biodegradation of wastewater

by microbial consortia with fractional factorial design. *Journal of Hazardous Materials*, 171:948-953.

Fadil K., Chahlaoui A., Quahbi A., Zaid A. and Borja R. (2003). Aerobic biodegradation and detoxification of wastewaters from the olive oil industry. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 51: 37-41.

Hesnawi R., Dahmani K., Al-Swayah A., Mohamed S., Mohammed S.A. (2014). Biodegradation of municipal wastewater with local and commercial bacteria. Procedia Engineering, 70: 810-814.

Hisashi N., Tomohiro K., Masanori W., and Ken S. (2000). Simultaneous removal of chemical oxygen demand (COD), phosphate, nitrate, H2S in synthetic sewage wastewater using porous ceramic immobilized photosynthetic bacteria. *Biotechnology letter*, 22: 1369-1374.

Ma F, Guo J., Zhao L.J., Chang C.C., and Cui Di C. (2009). Application of bioaugmentation to improve the activated sludge system into the contact oxidation system treating petrochemical wastewater. *Bioresource Technology*, 100 (2): 597-602.

McKeown R., Hughes D., Collins G., Mahony T., and O'Flaherty V. (2012). Low-temperature anaerobic digestion for wastewater treatment. *Current Opinion in Biotechnology*, 23 (3):444-451.

Qu Y., Zhang Y., Ma F., Zhou J., and Yan B. (2011). Bioaugmentation with a novel alkali-tolerant *P.* strains for alkaline phenol wastewater treatment in sequencing batch reactor. *World J. Microbio.Biotechnol*, 27: 1919-1926.

Tuo B., Yan B., yang Z. and Liu J. (2011). Biodegradation characteristic and bioaugmentation potential of a novel quinolive-degrading strain of Bacillus spp. isolated from petroleum-contaminated soil. *Bioresource Technology*, 107: 55-60.

Yuan H., Nie J., Zhu N., Miao C. and Lu N. (2013). Effect of temperature on the wastewater treatment of a novel anti-clogging soil infiltration system. *Ecological Engineering*, 57:375-379.