المعالجة البايولوجية للمخلفات العضوية الملوثة للبيئة وانتاج الهيدروجين الحيوي

سعد حسين خضير، امل عبد النبي حالوب,ايمان هندي كاطع,امينة غازي عبد
وزارة العلوم والتكنولوجيا/ دائرة بحوث وتكنولوجيا البيئة والمياه

Biological treatment of organic waste polluting the environment and bio-hydrogen production

Saad H. Khudair ,Amal A . Haloob ,Iman H. Qatia ,Ameena Gh. Abid

Department of Environment and Water Technology Researches, Division of Pollution Treatment Technology, Ministry of Science and Technology, Baghdad, Iraq

Abstract

Thirty four local isolates of bio-hydrogen producing anaerobic bacteria were isolated from samples of solid waste of sewage plants from different regions using liquid and solid mineral salt medium at initial pH of 7 and incubated at 37 ºC for 72 hr. .

The ability of isolates was tested to produce bio-hydrogen, using liquid production medium. Results indicate that the bio-hydrogen production in 25 isolates cannot be detected, while 9 isolates showed the ability to produce bio-hydrogen and that theAn-18 isolate showed the highest level of bio-hydrogen production(34 ppm) after 72 hr. of incubation at 37 ºC.

Anaerobic isolates producing bio-hydrogen were identified based on morphological characteristics and some biochemical tests, results showed that 7isolates belong to the genus *Actinomyces*sp.and only two isolates belong to the genus *Clostridium* sp., Then prepared the mixed culture from 7 isolates and subsequently was used as inoculums for hydrogen production medium.

Inoculated the bioreactor containing the residues of agricultural and household by mixed culture (1 ml/ 50 ml medium) at initial pH of 7 and incubated at 37 ºC by using water bath for 20 days ,and subsequently was estimated the amount of hydrogen produced in every day. The results showed that hydrogen production was started from the second day (12 ppm) andreached its maximum production for the period from 14-17 days after the start of the experiment.

Key words: Bio-hydrogen, organic waste, *Actinomyces*sp.

المستخلص

عزلت 34 عزلة بكتيرية لاهوائية محلية من نماذج مخلفات محطات المجاري ومن مناطق مختلفة باستخدام وسط الأملاح المعدنية السائل والصلب ذو الرقم الهيدروجيني 7 والمحضن بدرجة حرارة 37مْ لمدة 72 ساعة، اختبرت قدرة العزلات على انتاج غاز الهيدروجين الحيوي، حيث أظهرت النتائج إن 25 عزلةلم تبدي قابلية على إنتاج الهيدروجين الحيوي فيما أبدت9عزلات قابلية على الإنتاج وان العزلة An-18أظهرتالقابلية الأعلى على الإنتاج وبمقدار 34 ppm هيدروجين بعد 72 ساعة من الحضانة بدرجة حرارة 37مْ.

شخصت العزلات البكتيرية اللاهوائية المنتجة للهيدروجين الحيوي وبالاعتماد على الفحوصات المظهرية وبعض الفحوصات الكيموحيوية، حيث وجد بان 7 عزلات منها تعود للجنس *Actinomyces* sp. وعزلتان فقط تعود

للجنس .*Clostridium* sp، بعدها حضر لقاح المزرعة الخليطة من العزلات السبعة التابعة للجنس.*Actinomyces* sp لغرض استخدامها في التجربة اللاحقة.
لقح المفاعل الحيوي الحاوي على المخلفات الزراعية والمنزلية بخليط المزرعة البكتيرية وبمقدار 1مللتر/ 50 مللتر وسط زرعي ذو رقم هيدروجيني 7، وبدرجة حرارة 37مْ باستخدام الحمام المائي لمدة 20 يوم، بعدها قدرت كمية الهيدروجين المنتج ولكل يوم، أظهرت النتائج إنإنتاج الهيدروجين بدء من اليوم الثاني وبمقدار 12 ppmواستمر بالتصاعد ليبلغ أقصاه200 ppmللفترة من14–17يوم من بدء التجربة، ثم بدء بالانخفاض التدريجي.

الكلمات الدالة: الهيدروجين الحيوي، المخلفات العضوية،.*Actinomyces* sp

المقدمة

يعد الهيدروجين الحيوي في الوقت الحالي من أهم مصادر الطاقة الجديدة والنظيفة، وهو مفضل على غاز الميثان الحيوي والميثانول الحيوي وذلك لكون الهيدروجين لا يرتبط مع أي ذرة كربون وبالتالي فعند احتراقه لا يسبب أي مشاكل تساهم في زيادة نسب الغازات في الغلاف الجوي او تكون الامطار الحامضية(1).
وبسبب ارتفاع أسعار الوقود العالمية وكذلك لزيادة معدلات التلوث البيئي الناجمة عن استخدام مصادر الطاقة التقليدية فقد اتجهت العديد من البحوث والدراساتإلىمحاولة إنتاج غاز الهيدروجين كمصدر طاقة بديل ونظيف، كما وان الهيدروجين يعد مادة وسطية للعديد من الصناعات وينتج حاليا بثلاث طرق رئيسية(2).

1- التحلل الكهربائي للماء.
2- اعادة تكوين البخار من الهيدروكاربونات.
3- العمليات الحرارية الذاتية.ونتيجة لارتفاع تكاليف إنتاج الهيدروجين بالطرق الكيماوية والفيزياوية وذلك لحاجتها الى توفير طاقة عالية، فقد اتجهت الانظار خلال السنوات القليلة الماضية نحو الطرق البايولوجية لانتاج الهيدروجين الحيوي بسبب انخفاض تكاليف الانتاج فيها(3)، ولقابليتها على استخدام المخلفات العضوية الملوثة للبيئة كمادة اساس مما يؤدي الى انتاج طاقة نظيفة من مواد رخيصة او عديمة الكلفة(4).
وينتج الهيدروجين بايولوجيا بأربع طرق رئيسية اعتمادا على نوع وطبيعة الاحياء المجهرية المستخدمة وكذلك تبعا لنوع المادة الاساس المستخدمة بالانتاج (5)

1- التحلل الضوئي الحيوي للماء بواسطة الطحالب.
2- عملية تخمر الضوء.
3- عملية تخمر الظلام.
4- تخمرات الضوء والظلام للمواد العضوية.

وبسبب بدأ الانخفاض التدريجي لاحتياطي الوقود في العالم وكذلك لان احتراق الوقود التقليدي له التاثير السلبي التراكمي على البيئة لانه يسبب انبعاث Co_2 ، فقد بدأت الابحاث العلمية بمحاولة أنتاج غاز الهيدروجين كمصدر طاقة بديل, لكونه غاز نظيف لا يسبب انبعاث Co_2 وكذلك لسهولة استخدامه بخلايا الوقود في المحطات الكهربائية، بالاضافة الى ان الطاقة المتولدة عن احتراق الهيدروجين تعادل 2075 مرة اكثر من المتولدة عن الوقود الاحفوري(6).

وتعد عملية انتاج الهيدروجين الحيوي من مصادر متجددة ومتوفرة في البيئة ذات جدوى مهمة لتقليل مصادر التلوث وبنفس الوقت انتاج مواد مفيدة اقتصاديا من مواد قليله او عديمة الكلفة عن طريق تنمية الاحياء المجهرية الهوائية واللاهوائية على مخلفات غنية بالكاربوهيدرات ومواد اولية اخرى، وان الطرق الحيوية لانتاج الهيدروجين تعد تطبيق مرجو وجديد للارتقاء بانتاجية الغاز من مخلفات بيئية مختلفة (7).

المواد وطرائق العمل

جمع النماذج

جمعت 10 عينات لنماذج مخلفات مجاري صلبة من مناطق مختلفة من مدينة بغداد، وضعت العينات في حاويات نظيفة ومعقمة بدرجة حرارة 4مْ لحين الاستخدام.

تحضير محلول نماذج العزل

استخدم 10 من نماذج المخلفات الصلبة كمصدر لعزل الاحياء المجهرية اللاهوائية والمنتجة لغاز الهيدروجين، حيث عومل اولا بواسطة 50 مللتر من محلول حامض الهيدروكلوريك ذو الرقم الهيدروجيني 3 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة الغرفة، بعدها عدل الرقم الهيدروجيني الى 7 باستخدام هيدروكسيد الصوديوم NaOHوحضنت النماذج بدرجة حرارة 37 م لمدة 12 ساعه لزيادة اعداد الاحياء المجهرية (8).

عزل الاحياء المجهرية

استخدم وسط الاملاح المعدنية الصلب والسائل لعزل وتنقية العزلات البكتيرية ولانتاج الهيدروجين الحيوي ويتكون من(غم/ لتر):

1- NH_4HCO_3 2.24
2- $NaHCO_3$ 6.72
3- K_2HPO_4 0.125
4- $MgCl_2.6H_2O$ 0.1
5- Organic waste 10

اكمل الحجم الى 1000 مللتر باستخدام الماء المقطر وعدل الرقم الهيدروجيني الى 7، ثم عقم بالموصدة، بعدها استخدم 2 مللتر من محلول نماذج العزل لتلقيحالاوساط الزرعية بحجم 50 مللتر والمحضرة في قناني مغلقة، عوملت قناني الاوساط الزرعية الملقحة بواسطة غاز الاركون لطرد الاوكسجين وحضنت بالحاضن الهزاز بدرجة حرارة 37 م لمدة 72 ساعة، قدرت كمية الهيدروجين المنتج بواسطة العزلات وباستخدام جهاز قياس تركيز الهيدروجين لانتخاب العزلات الاكفأ (9).

تحضير خليط المزرعة

بعد انتخاب العزلات البكتيرية الاكفأ على انتاج الهيدروجين، حضر وسط الاملاح المعدنية السائل ولقحت بواسطة العالق البكتيري للعزلات الانشط وبقدار 1 مللتر لكل عزلة وحضن تحت الظروف اللاهوائية لمدة 72 ساعة بدرجة حرارة 37 م، ثم استخدم لتلقيح المفاعل الحيوي (9).

انتاج الهيدروجين بواسطة المفاعل الحيوي بنظام الدفعة

استخدم 10 كغم من المخلفات الزراعية والمنزلية وبنسبة4:1 لتشغيل تجربة المفاعل الحيوي بحجم 20 لتر وباستخدام وسط الاملاح المعدنية السائل، بعدها لقح المفاعل الحيوي بخليط المزرعة البكتيرية وبمقدار(1 مللتر لقاح/ 50 مللتر وسط زرعي)، استخدم غاز الاركون لطرد الاوكسجين(توفير الظروف اللاهوائية) ثم حضن المفاعل الحيوي بدرجة حرارة 37 م باستخدام الحمام المائي ولمدة20 يوم، قدرت كمية غاز الهيدروجين المنتج ولكل يوم((10).

النتائج والمناقشة

العزل والتشخيص

عزلت 34 عزلة بكتيرية لاهوائية من نماذج مخلفات المجاري من مناطق مختلفة بأستخدام وسط الأملاح المعدنية السائل ذو الرقم الهيدروجيني 7 والمحضن بدرجة حرارة 37 مْ لمدة 72 ساعة، بعدها نقيت العزلاتالبكتيرية اللاهوائية واختبرت قدرتها على إنتاج الهيدروجين الحيوي بعد 72 ساعة من الحضانة بدرجة حرارة 37 مْ، تشير النتائج إن9 عزلات فقط منها أظهرت قابلية على إنتاج الهيدروجين الحيوي تحت ظروف النمو وان العزلة An-18أبدت أفضل إنتاجية للغاز وبمقدار 34 ppm فيما لم تستطع 25 عزلة من إنتاج الهيدروجين تحت ظروف التجربة.جدول(1)

جدول (1):قابلية العزلات البكتيرية المحلية اللاهوائية على إنتاج الهيدروجيني الحيوي والمحضن بدرجة حرارة 37مْ لمدة 72 ساعة.

ت	العزلات	إنتاجية الهيدروجين الحيوي(ppm)
1	An-3	13
2	An-7	28
3	An-9	30
4	An-13	29
5	An-17	29
6	An-18	34
7	An-25	12
8	An-29	30
9	An-31	30
10	25 عزلة	(nd) لم تبدي قابلية على الانتاج

شخصت العزلات البكتيرية اللاهوائية المنتجة لغاز الهيدروجين وبالاعتماد على الصفات المظهرية وبعض الفحوصات الكيموحيوية، يظهر جدول(2) ان معظم العزلات تعود للجنس *Actinomyces sp.* وعزلتان منها فقط تعود للجنس *Clostridium sp..*

جدول(2): التشخيص الاولي للعزلات البكتيرية المنتجة للهيدروجين الحيوي.

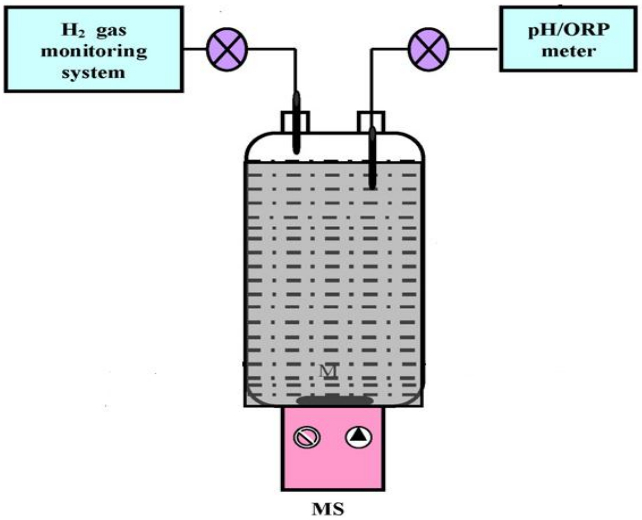
ت	العزلات	التشخيص الاولي للعزلات
1	An-3	*Clostridium sp.*
2	An-7	*Actinomyces sp.*
3	An-9	*Actinomyces sp.*
4	An-13	*Actinomyces sp.*
5	An-17	*Actinomyces sp.*
6	An-18	*Actinomyces sp.*
7	An-25	*Clostridium sp.*
8	An-29	*Actinomyces sp.*
9	An-31	*Actinomyces sp.*

تمكن العديد من الباحثين من عزل انواع مختلفة من الاحياء المجهرية القادرة على انتاج الهيدروجين الحيوي تحت الظروف الهوائية واللاهوائية ومن نماذج مختلفة، وباستخدام العديد من المخلفات العضوية كمادة اساس, الا ان الانواع اللاهوائية التابعة للجنس *Clostridium* تعد الاشهرمثل *C. buytricum*،*C.thermolacticum* ,*C. pasteurinum*,*C. parabuterificum* و *C.*

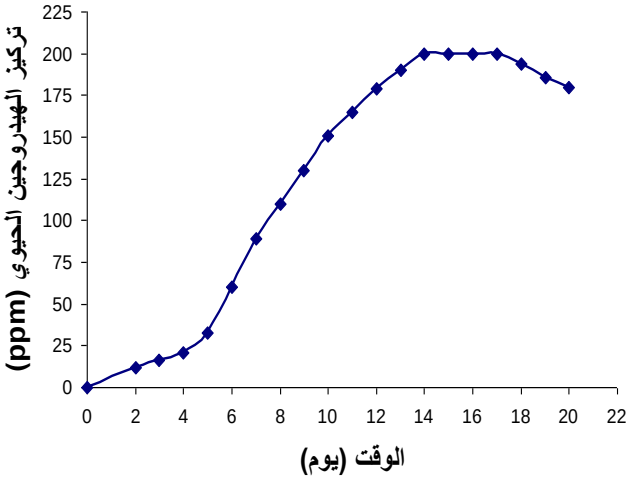
bifermentans وهي احياء مجهرية لاهوائية مكونة للسبورات ويمكنها انتاج غاز الهيدروجين خلال مرحلة الطور اللوغارتمي للنمو (11)،(12)، فيما تمكن kumar and Das(13) من عزل بكتريا*Enterobacter cloacae* والتي ابدت قدرة عالية على انتاج الهيدروجين الحيوي وبمقدار29.6 ملي مول/ساعة ، واستطاع Taguchi واخرون (14) من عزل عدد من عزلات بكتريا *Clostridium beijerinckii* والتي اعطت قابلية على انتاج الغاز وبنسبة تتراوح بين 1.3- 2 مول/ مول كلوكوز، اما Koku واخرون (15) فقد تمكن من عزل بكتريا *Rhodopseudomonas palustris* والتي ابدت القدرة على انتاج غاز الهيدروجين الحيوي وباستخدام انواع مختلفة من المخلفات العضوي كمادة اساس.

تجربة المفاعل الحيوي

حضر خليط العزلات البكتيرية من الأنواع التابعة للجنس *Actinomyces sp.*والتي أبدت القابلية الأعلى على الإنتاجلتحديد قابليها على إنتاج الهيدروجين الحيوي في منظومة المفاعل الحيوي شكل(1) وباستخدام المخلفات الزراعية والمنزلية كمادة أساس،لقح المفاعل الحيوي بخليط المزرعة البكتيرية وبمعدل 1 مللتر/ 50 مللتر وسط زرعي ذو رقم هيدروجيني 7 وباستخدام نظام الدفعة Batch cultureوحضن لمدة 20 يوم، أظهرت النتائج إنإنتاج غاز الهيدروجين الحيوي بدء من اليوم الثاني للحضانة(12 ppm) واستمر بالازدياد وبشكل تدريجي ليصل إلى200 ppmللفترة من 14 الى 17 يوم من الحضانة ثم بدء بالانخفاض التدريجي شكل(2)، وقد يعود سبب ذلك إلى تراكم النواتج العرضية في وسط النمو وبالتالي التأثير على معدلات نمو العزلات البكتيرية.



شكل (1): منظومة المفاعل الحيوي بنظام الدفعة لانتاج الهيدروجين الحيوي باستخدام المخلفات العضوية.



شكل (2):انتاجية غاز الهيدروجين الحيوي في المفاعل الحيوي الملقح بواسطة خليط العزلات البكتيرية والمحضن بدرجة حرارة 37مْ لمدة حضانة مختلفة.

استخدم Mohan واخرون(16) المخلفات السائلة لصناعة الالبان لانتاج الهيدروجين الحيوي في مفاعل حيوي مختبري وبطريقة مزرعة الوجبة، حيث لقح المفاعل الحيوي بالعزلات البكتيرية وحضن لمدة 50 يوم، اظهرت النتائج ان اقصى انتاجية كانت بعد 37 يوم من بدء التجربة وبانتاجية مقدارها 2.2 ملي مول/ يوم، اما Ren واخرون (17) فق استخدم المفاعل الحيوي لانتاج الهيدروجين وبطريقة المزرعة المستمرة باستخدام عزلات بكتيرية محبة للحامضية، وتشير النتائج ان افضل انتاجية(14.99لتر/ يوم) بعد 40 يوم من التشغيل.

الاستنتاجات والتوصيات

من خلال النتائج التي حصلنا عليها يتبين امكانية الحصول على عزلات مكروبية مختلفة قادرة على انتاج غاز الهيدروجين الحيوي وباستخدام مواد اساس مختلفة تبعا لنوع العزلات المحلية التي يحصل عليها، كما دلت النتائج ان العزلات المحلية المعزولة من البيئة العراقية والمنتجة للغاز تعود لنفس الاجناس العالمية المستخدمة على نطاق مختبري وتجريبي لانتاج الغاز.

التوصيات

1- التوسع في اعداد وانواع نماذج العزلة لتحديد العزلات المحلية الاكفأ.

2- تحديد الظروف المثلى لنمو العزلات الاكفأ وكذلك لانتاج الهيدروجين الحيوي.

3- التحول من اسلوب مزرعة الوجبة في انتاج الغاز الى طريقة المزرعة المستمرة لزيادة كفاءة الانتاج.

References

1-Kapdan K. and Kargi F.(2006). Bio-hydrogen production from waste materials.Rev Enzyme and Microbiol Technology, (38):569–582.

2-Nandi R. and Sengupta S. (1998). Microbial production of hydrogen: an overview. Crit Rev Microbiol, 24(1):61–84.

3-FanY-T.; ZhangY-H.; Zhang S-F.; HouH-W. and Ren B-Z.(2006). Efficient conversion ofwheat straw wastes into biohydrogen gas by cow dung compost. Bioresour Technol ,97:500–5.

4-Das D.;Veziroglu TN.(2001). Hydrogen production by biological process: a surveyof literature. Int J Hydrogen Energy,26(1):13–28.

5- Meng Ni.; Dennis Y.; Michael K.H.;and SumathyK.(2006). An overview of hydrogen production from biomass.Fuel Processing Technology. ,87: 461 – 472.

6- Armor JN.(1999). The multiple roles for catalysis in the production of H2.Appl Catal A: Gen , 176:159–76.

7-Levin D.; Pitt L. and Love M.(2004). Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application. Int J Hydrogen Energy,29:173–85.

8-Taguchi F.; Yamada K.; Hasegawa K.; Saito-Taki T.and Hara K.(1996). Continuous hydrogen production by *Clostridium* sp. strain no. 2 from cellulose hydrolysate in an aqueous two-phase system. J Ferment Bioeng,82:180–3.

9- Fang H. and Liu H.(2002). Effect of pH on hydrogen production from glucose by mixed culture. Bioresour Technol ,82:87–93.

10- Wu K.; Chang J.; and Chang C,(2006). Biohydrogen production using suspended and immobilized mixed microflora. J. Chin Inst. Chem. Engrs., 37(6):545-550.

11- Collet C.; Adler N.; Schwitzgu J.; and Peringer P. (2004). Hydrogen production by *Clostridium thermolacticum*during continuous fermentation oflactose. Int J Hydrogen Energy ,29:1479–85.

12- Liu G, and Shen J.(2004). Effects of culture medium and medium conditions onhydrogen production from starch using anaerobic bacteria. J BiosciBioeng ,98:251–6.

13- Kumar N, and Das D.(2000). Enhancement of hydrogen production by *Enterobactercloacae*IIT-BT 08. Process Biochem ,35:589–93.

14-Taguchi,F.;Chang, D.; Takiguchi, S. and Morimoto, M. (1992). Efficient hydrogen production from starch by a bacterium isolated from termites. J. Ferment. Bioeng., 73:244-245.

15-Koku H.; EroglуI,ucel M.; and Turker L.(2003). Kinetics of biohydrogen production by the photosynthetic bacterium *Rhodobacterspheroids*O.U. 001. Int J Hydrogen Energy ,28:381–8.

16- Mohan, S.; Babu, V.; and Sarma, p.(2007). Anaerobic biohydrogen production from dairy wastewater treatment in sequencing batch reactor: Effect of organic loading rate. Enzyme Microb. Technol., 41:506-515.

17-Ren, N.; Chua, H.; Chan, S.; Tsang, Y.; Wang, Y. and Sin, N.,(2006). Assessing optimal fermentation type for biohydrogen production in continuous-flow acidogenic reactors. Bio-resource Technol. 07.026 (online paper)