

# تأثیر پدیده تخریب حد نصاب احساس بر عملکرد سازوکار شکار میکروبی در کاهش لجن مازاد

پونه وثوقی، حسن امینی راد\*

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد عمران-محیط زیست، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل
۲. استادیار دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، دانشکده مهندسی عمران، گروه مهندسی محیط زیست

H.a.rad@nit.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۸/۳۰

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۰۵

## چکیده

امروزه دفع و تصفیه لجن ناشی از تصفیه‌خانه‌های فاضلاب به دلیل عوامل زیست‌محیطی حائز اهمیت است. استفاده از راکتور بی‌هوازی جانبی در سیستم لجن فعال که با نام تجاری کانیبال (Cannibal) شناخته می‌شود، یکی از روش‌های به‌کار رفته برای کاهش نرخ تولید لجن در خط تصفیه فاضلاب است. در این پژوهش با هدف طراحی یک سیستم ترکیبی مناسب از فرآیند کانیبال و پدیده تخریب حدنصاب احساس (QQ: Quorum Quenching) و به دنبال آن تقویت سازوکار شکار میکروبی به بهبود راندمان کاهش لجن مازاد پرداخته شده است. بر این اساس این پروژه در دو فاز آزمایشگاهی انجام شد و راکتورهای مربوطه با فاضلاب مصنوعی راهبری شدند. در فاز اول از فرآیند کانیبال در قالب یک راکتور آزمایشگاهی استفاده شد و در فاز دوم با تعبیه کردن یک راکتور هوادهی مجزا و اضافه کردن باکتری *Rhodococcus sp. BH4* باکتری خاموش‌کننده حدنصاب احساس (QS: Quorum Sensing) که در یک ساختار پلیمری آلزینات قرار گرفتند و به عنوان دانه‌های QQ معرفی می‌شوند فرآیند کانیبال اصلاح‌شده طراحی شد. نتایج نشان داد که حضور دانه‌های QQ منجر به افزایش چشم‌گیر جمعیت یوکاریوت‌های شکارچی، پرتوزوآها، شده‌است. ضریب بازدهی ( $Y_{obs}$ ) در راکتور کانیبال شاهد و کانیبال اصلاح شده به ترتیب برابر ۰/۳۸۹ و ۰/۰۹۲ به دست آمد که کاهش چشم‌گیر ۷۷ درصدی را به همراه داشته‌است. همچنین با افزایش شکار میکروبی، حد نصاب احساس باعث افزایش EPS شده‌است، که به بررسی و تحلیل آن پرداخته شده‌است. احداث تانک پیش تصفیه QQ باعث تقویت سازوکار شکار میکروبی در سیستم کانیبال و افزایش چشم‌گیر راندمان این سیستم شده و لجن مازاد بیولوژیکی به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد.

**واژگان کلیدی:** لجن مازاد، فرآیند کانیبال، شکار میکروبی، تخریب حد نصاب احساس

## ۱. مقدمه

فاضلاب وجود دارد [1]. سرانه تولید لجن مازاد در یک تصفیه‌خانه لجن فعال متعارف بین ۱۰۰-۱۵ لیتر به ازای یک کیلوگرم  $BOD_5$  حذف شده گزارش شده است [2] که بیشتر حاوی ۰/۲۵ تا ۱۲ درصد وزنی جامدات هستند [3]. هزینه تصفیه و دفع لجن مازاد ۳۰ تا ۶۰ درصد کل هزینه‌های

امروزه دفع و تصفیه لجن ناشی از تصفیه‌خانه‌های فاضلاب به دلیل عوامل زیست‌محیطی حائز اهمیت است، بنابراین انگیزه قابل توجهی برای کشف و توسعه برنامه‌های راهبردی برای کاهش تولید بیش از حد لجن در فرآیندهای تصفیه

و نتایج نشان داد که نرخ ۱۰٪ بیشترین کاهش لجن مازاد را داشته است [8]. در پژوهشی دیگر ۱۰٪ از لجن برگشتی در یک حوض بی‌هوازی نگهداری شد و نتایج نشان داد مقدار MLSS آن ۳۰٪ کاهش یافته است [9].

در شکل (۱) سیستم کانیبال نشان داده شده است.

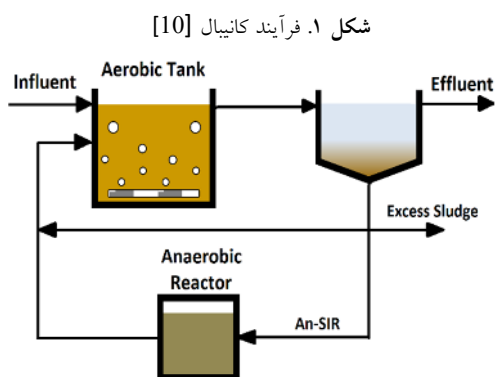


Fig. 1. Cannibal Process

تکدستان و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی اثر حوضچه بی‌هوازی بر کیفیت پساب خروجی و قابلیت ته‌نشینی لجن را بررسی کردند و به راندمان کاهش لجن ۶۰٪ رسیده‌اند [10]. فوکوآ و همکاران در سال ۱۹۹۴ برای اولین بار اصطلاح حد نصاب احساس (QS) را مطرح کردند [11]. حد نصاب احساس به تولید، رهاسازی و شناسایی مولکول‌های پیام‌رسان کوچک (خودالقارها) توسط میکروارگانیسم‌ها گفته می‌شود [12]. تخریب حد نصاب احساس (QQ)، اختلال در سازوکار حد نصاب احساس است، تجزیه آسید هموسرین لاکتون‌ها (AHLs) پرکاربردترین و عملی‌ترین مسیر برای ایجاد تداخل در سیستم QS است. کاهش AHLs‌ها از راه‌های گوناگون حاصل می‌شود که می‌توان به آنزیم‌های خاص از جمله آنزیم‌های آسپلاز، لاکتوناز، پاراکسوناز و اکسیدرودکتاز اشاره کرد [13]. تاکنون باکتری‌های زیادی با ویژگی QQ در راکتورهای بیولوژیکی تصفیه فاضلاب گزارش شده‌اند [14]. در شکل (۲) تصویر شماتیک سیستم QS و QQ نشان داده شده است. صالحی و همکاران (۲۰۱۸)، با استفاده از راکتور بی‌هوازی جانبی در فرآیند SBR و بررسی پدیده حد نصاب احساس

راهبری تصفیه‌خانه را شامل می‌شود و از طرف دیگر در صورت دفع غیراصولی آن، دارای پتانسیل ایجاد خطرات زیست‌محیطی شدید در ارتباط با اکوسیستم محیط‌های پذیرنده است [1]. کودوبا و همکاران در سال ۱۹۹۲، برای اولین بار یک سیستم لجن فعال اصلاح شده را معرفی کردند که دارای یک تانک بی‌هوازی در مسیر لجن برگشتی به حوض هوادهی بوده‌است. نتایج این پژوهش نشان داد که میزان لجن مازاد تولید شده نسبت به راکتور لجن فعال متعارف کم‌تر است. سازوکار استفاده شده در این فرآیند، متابولیسم جفت نشده و خودخوری است. بدین صورت که ذخایر ATP<sup>۱</sup> درون سلول باکتری‌ها در حوض بی‌هوازی کاهش یافته و با بازگشت به حوض هوادهی، باکتری‌ها پیش از تولید سلول جدید، شروع به جبران ذخایر انرژی خود می‌کنند، در نتیجه ضریب  $Y_{obs}$  (تولید بیومس به ازای مصرف سوستر) کاهش می‌یابد [4]. استفاده از فرآیند راکتور بی‌هوازی جانبی یکی از راه‌های کاهش لجن است که با نام کانیبال<sup>۲</sup> شناخته می‌شود [5, 6]. این روش به دلیل سادگی فرآیند، عدم نیاز به سرمایه‌گذاری اولیه چشمگیر، قابلیت سازش با فرآیندهای موجود لجن فعال و عدم نیاز به مواد شیمیایی مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. بر اساس مطالعات صورت گرفته سازوکارهای حاکم در این سیستم شامل: سازوکار شکار میکروبی، سازوکار خودخوری، تخریب EPS<sup>۳</sup>، قحطی و فراوانی سوستر و همچنین سازوکار جفت نشده است [7].

نواک و همکاران (۲۰۰۷) هنگام مطالعه‌ای گزارش کردند فرآیند کانیبال میزان مواد جامد کم‌تری نسبت به سیستم لجن فعال معمولی تولید می‌کند، همچنین هیچ‌گونه اثر منفی بر کیفیت پساب خروجی، ته‌نشینی و آب‌گیری لجن ندارد. این فرآیند با هدف تولید لجن مازاد کم‌تر و همچنین افزایش کیفیت پساب خروجی انجام می‌شود. همچنین نواک و همکاران یک سیستم SBR<sup>۴</sup> را با یک حوضچه بی‌هوازی تحت نرخ‌های تبادل ۳٪، ۵٪، ۷٪، ۱۰٪ و ۱۵٪ بررسی کردند

۳. Extracellular Polymeric Substances

4. Sequencing Batch Reactor

۱. Adenosine triphosphate

2. Cannibal

جامد Bertani agar 1.5% Luria در مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس باکتری از روی پلیت‌ها جمع‌آوری شده و به محلول ۰.۴٪ سدیم آلزینات افزوده شدند تا در نهایت محلولی با غلظت باکتری ۴-۵ mg/ml بدست آید. این محلول به صورت قطره‌چکانی در محلول ۳٪ کلسیم کلراید ریخته شد تا دانه‌های QQ در داخل محلول کلسیم کلراید شکل گیرند. پس از ۲۰ دقیقه دانه‌ها از محلول خارج و سه مرتبه با آب مقطر شسته شدند [17]. شکل (۳) دانه‌های QQ را نشان می‌دهد.



Fig. 3. QQ beads

## ۲-۲ راکتورهای بیولوژیکی

برای راه‌اندازی سیستم، راکتورهای بیولوژیکی در دو مرحله آزمایشگاهی به صورت ناپیوسته متوالی ساخته شدند. مرحله اول تحت فرآیند کانیبال با استفاده از راکتور هوازی اصلی و راکتور بی‌هوازی جانبی با نرخ تبادل ۱۰٪ لجن و مرحله دوم با اضافه کردن راکتور پیش‌تصفیه‌ی هوازی QQ که شامل ۲۵٪ لجن راکتور هوازی کانیبال به همراه ۲۰۰ دانه QQ بوده است، تحت عنوان کانیبال اصلاح شده راهبری شدند. حجم مفید هر راکتور ۴ لیتر بوده و به صورت سیکل ۸ ساعته خوراک‌دهی می‌شدند. از فاضلاب مصنوعی برای خوراک‌دهی به راکتورهای مدنظر استفاده شده در جدول (۱) ترکیبات فاضلاب مصنوعی مورد استفاده و در شکل (۳) شماتیک راکتورهای بیولوژیکی نشان داده شده‌است.

به کاهش لجن مازاد پرداختند. پدیده حد نصاب احساس در این پژوهش منجر به افزایش ۲۳ درصدی راندمان کاهش لجن مازاد فرایند کانیبال شده‌است. همچنین سازوکار شکار میکروبی در این سیستم افزایش یافت [15, 16].

شکل ۲. شماتیک سیستم الف) حد نصاب احساس ب) تخریب حد نصاب احساس [15].

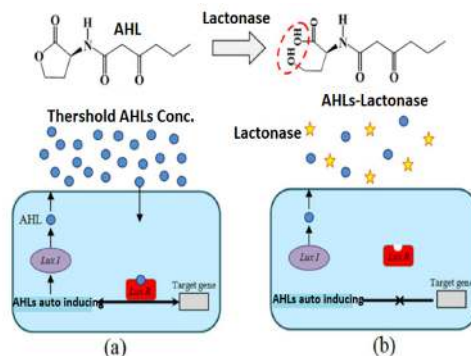


Fig. 2. Schematic system: a) Quorum Sensing b) Quorum Quenching

در این پژوهش یک راهکار مناسب برای افزایش راندمان سیستم کانیبال پیشنهاد شده است؛ که از آن با نام فرآیند کانیبال اصلاح شده تعبیر شده است. با استفاده از پدیده ضد حد نصاب احساس (QQ)، بوسیله دانه‌های QQ به عنوان خاموش‌کننده حد نصاب احساس در یک راکتور هوادهی مجزا، سازوکار شکار میکروبی در سیستم کانیبال تقویت شده و راندمان سیستم افزایش می‌یابد. در نتیجه این پژوهش با هدف بهینه‌سازی و طراحی مناسب سیستم کانیبال و پدیده تخریب حد نصاب احساس انجام شده‌است.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۱-۲ ساخت دانه‌های Quorum Quenching

این دانه‌ها به طور کلی دارای ساختاری کروی با قطر معمول ۵/۵ میلی‌متر بوده‌اند. یک‌دست بودن دانه‌ها و مقدار سطح ویژه دانه‌ها از عوامل مهم و تأثیرگذار بر فعالیت آن‌ها است. دانه‌های QQ برای تخریب سیستم حدنصاب احساس ساخته شدند که برای این منظور از باکتری *Rhodococcus sp.* BH4 استفاده شد. باکتری مورد نظر در محیط کشت نیمه

شکل ۳. الف) فرآیند کانیبال متعارف ب) فرآیند پیشنهادی کانیبال اصلاح شده

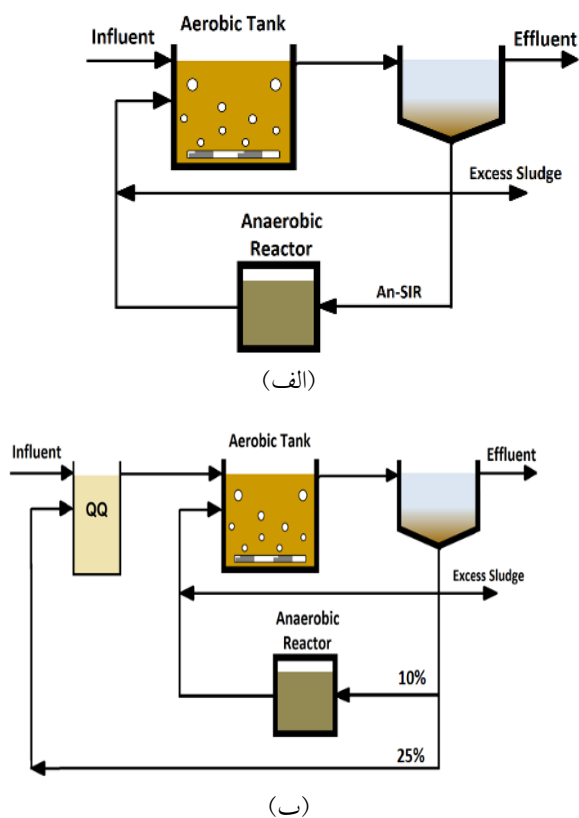


Fig. 3. Biological Reactors a) Cannibal b) Modified Cannibal

## ۲-۳ آزمایش‌ها

تمامی آزمایش‌های انجام شده در این پژوهش بر اساس دستورالعمل‌های کتاب استاندارد انجام شده است [18]. همچنین کلیه آزمایش‌ها حداقل ۳ بار تکرار شده‌است تا خطای آزمایش به حداقل برسد.

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱ بررسی ضریب بازدهی $Y_{obs}$

به منظور بررسی کاهش لجن مزاد، تغییرات MLSS در تانک هوادهی اصلی و همچنین میزان حذف COD پس‌اب خروجی اندازه‌گیری شد. در طول این تحقیق میزان MLSS به‌طور روزانه روی  $2500 \text{ mg/l}$  تنظیم شده‌است. مطابق شکل (۴) ضریب بازدهی  $Y_{obs}$  شیب نمودار تجمعی MLSS-COD است. مطابق شکل در فاز اول طی فرآیند

جدول ۱. ترکیبات فاضلاب مصنوعی

Trace element solution		Medium composition	
[g/l]	composition	[mg/l]	composition
2.73	Citric acid	300 (COD)	Peptone water
1.5	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	100 (COD)	$\text{CH}_3\text{COONa}$
0.25	$\text{H}_3\text{BO}_3$	60	$\text{NH}_4\text{HCO}_3$
0.15	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	57	$\text{NH}_4\text{Cl}$
0.12	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	220	$\text{CaCl}_2$
0.06	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	394	$\text{NaHCO}_3$
0.03	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	34	$\text{KHSO}_4$
0.03	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	15	$\text{KH}_2\text{PO}_4$
0.03	$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	150	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
0.03	KI	1 (ml/l)	Trace element solution

Table.1. characteristics of synthetic wastewater

مدت هوادهی تانک پیش‌تصفیه هوازی QQ، ۳ ساعت تنظیم شده و پس از اتمام مدت هوادهی به راکتور هوازی اصلی منتقل می‌شوند. فاضلاب مصنوعی ورودی دارای COD ورودی برابر  $400 \text{ mg/l}$  و میزان فسفات  $5/7 \text{ mg/l}$  و آمونیاک ورودی  $28/7 \text{ mg/l}$  بوده است [9]. تمامی مواد شیمیایی ساخت فاضلاب مصنوعی محصول شرکت مرک آلمان باشد آزمایشگاهی (خلوص بیشتر از ۹۷٪) بوده است. همچنین غلظت MLSS حوض هوادهی تمامی راکتورها به صورت کنترل شده روی  $2500 \pm 200 \text{ mg/l}$  تنظیم شد.

۸۹/۶ و در فاز دوم در فرآیند کانیبال اصلاح شده برابر  $mg/l$  ۱۲۱/۵۷۸ بوده است که روند افزایشی داشته است. شکل ۵. غلظت ترکیبات پلیمری خارج سلولی (EPS) (الف) پروتئین، (ب) پلی- ساکارید

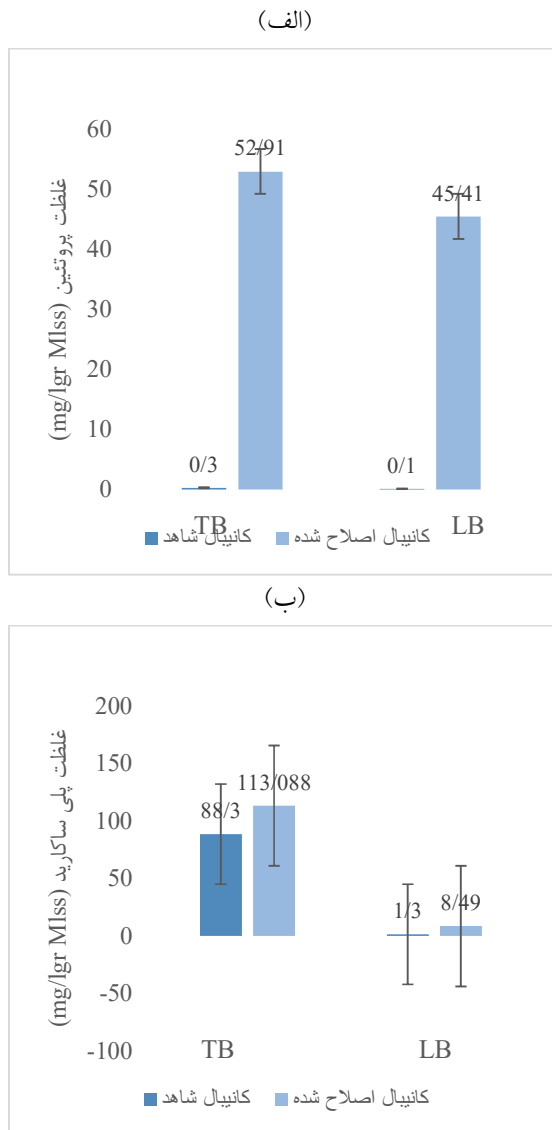
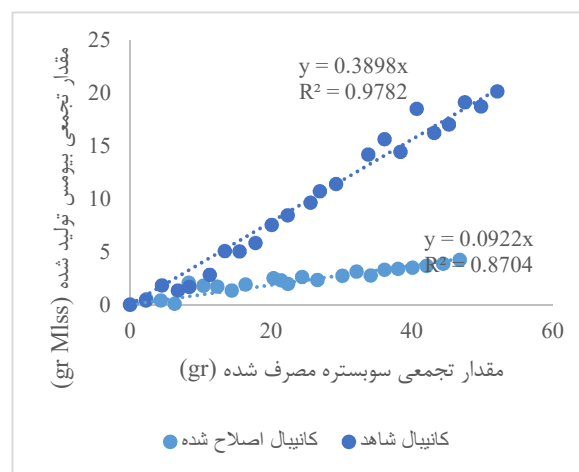


Fig. 5. Concentration of Extracellular polymeric substances: a) Protein b) Polysaccharid

سانگ و همکاران (۲۰۱۳) دریافتند که سیستم QS روی تولید پروتئین اثر گذار است [21]. نتایج نشان دادند که لایه TB-EPS بیشترین غلظت پلی-ساکاریدها و پروتئینها را داشته است که مطابق با نتایج سایر تحقیقات انجام شده بوده

متعارف کانیبال شیب نمودار ( $Y_{obs}$ ) برابر ۰/۳۸۹ و در فاز دوم با تعبیه مرحله پیش تصفیه هوازی QQ، دانه‌های QQ، در یک تانک هوادهی مجزا شیب نمودار به ۰/۰۹۲ رسیده است که نسبت به فاز اول ۷٪ کاهش داشته است. این ضریب تولید لجن بدست آمده مشابه ضرایب  $Y_{obs}$  در سیستم‌های بی‌هوازی است [19]. بر اساس آنچه انتظار می‌رفت، در این تحقیق راکتور پیش تصفیه هوازی QQ به منظور افزایش شکار میکروبی تعبیه شده است که می‌تواند دلیلی بر کاهش ضریب  $Y_{obs}$  باشد در ادامه این فاکتور مورد بررسی دقیق‌تر قرار خواهد گرفت.

شکل ۴. بررسی ضریب بازدهی  $Y_{obs}$



## ۲-۳ ترکیبات پلیمری خارج سلولی EPS

در لجن فعال ۷۰٪-۸۰٪ ترکیبات پلیمری خارج سلولی شامل پروتئینها و کربوهیدراتها هستند [20]. بنابراین در این پژوهش غلظت پروتئین و پلی-ساکارید در دو لایه LB-EPS و TB-EPS اندازه‌گیری شده است. مطابق شکل (۵) غلظت پروتئین و پلی-ساکارید EPS در فرآیند کانیبال شاهد و کانیبال اصلاح شده نشان داده شده است، مجموع غلظت پروتئین در فاز اول برابر  $mg/l$  ۰/۴ و در فاز دوم برابر  $mg/l$  ۹۸/۳ شده است که به طور کلی افزایش چشمگیری داشته است. همچنین غلظت پلی-ساکارید در فاز اول برابر  $mg/l$

مطابق شکل (۷) گونه‌های پرتوزوایی به ازای  $20 \mu\text{l}$  نمونه لجن شمارش شدند. همانطور که مشاهده می‌شود جمعیت این گونه‌ها در فاز دوم کانیبال اصلاح شده رشد چشم‌گیری داشته است. بیش‌ترین رشد مربوط به تازک‌داران و سیلیاته‌های چسبنده بوده است.

شکل ۷. جمعیت گونه‌های مختلف پرتوزوای شکارچی

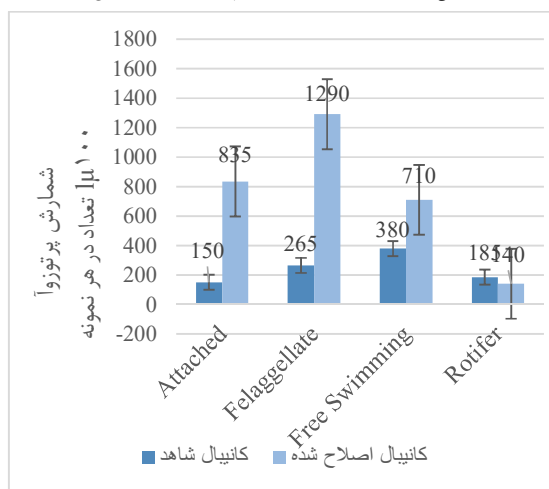


Fig.7. Population of different predator Protozoa

مطابق با آنچه پیش‌بینی می‌شد، ایجاد تانک پیش تصفیه هوازی شامل دانه‌های QQ در کانیبال اصلاح شده منجر به افزایش باکتری‌های آزاد شده که در نهایت شکار پرتوزوآها می‌شوند و به دنبال آن جمعیت شکارچیان افزایش می‌یابد. رشد هر کدام از این گونه‌ها نیازمند شرایط خاصی است. برای نمونه تازک‌داران که اغلب از باکتری‌های آزاد تغذیه می‌کنند (نه باکتری‌های چسبیده به فلاک‌های بیولوژیکی)، بیانگر شرایط نسبت غذا به جرم (F/M) بالا و یا کمبود اکسیژن است [30]. فرآیندهای دارای سیکل‌های هوازی-غیرهوازی شرایط مناسبی برای رشد و ایجاد تنوع در جمعیت پرتوزوآها دارند. همچنین فرآیندهای دارای راکتور بی‌هوازی جانبی که بیشتر دارای SRT بالاتری هستند نیز امکان رشد این جانوران شکارچی را فراهم می‌سازند.

است [22, 23]. پاسخ سیستم QS به این شرایط در ساختار لجن فعال منجر به افزایش غلظت EPS شده است. تأثیر سیستم QS بر تولید EPS در لجن فعال در مطالعات پیشین بیان شده است [24, 25]. همانطور که مشاهده شد می‌توان این‌گونه اظهارکرد که حد نصاب احساس باعث افزایش تولید آن شده است. ترشح EPS یکی از توابع سیستم QS است [26]. سیگنال‌های AHLs توسط آنزیم لاکتاناز، ترشح شده توسط باکتری *Rhodococcus sp. BH4*، هیدرولیز شده‌اند که در چندین مطالعه این فرآیند مورد تأیید قرار گرفته است [27, 28]؛ که البته این امر در راکتور پیش‌تصفیه هوازی که شامل دانه‌های QQ بوده است رخ داده است. در تحقیق انجام شده توسط شاو و همکاران (۲۰۰۹) مشخص شد که میزان پروتئین در لایه LB-EPS بسیار ناچیز، ۹/۶٪ در لایه TB-EPS و ۸۰/۷٪ در باقیمانده لجن وجود داشته است [29].

### ۳-۳ بررسی جمعیت یوکاریوت‌های شکارچی، پرتوزوآها

یوکاریوت‌های شکارچی، شامل پرتوزوآها و متازوآهای کوچک، حدود ۹٪ جامدات فرار لجن فعال را تشکیل می‌دهند [30]. شکار میکروبی یکی از سازوکارهای کاهش لجن مازاد است که به دو فاکتور زیر وابسته است: (۱) جمعیت پرتوزوآها؛ (۲) تعداد باکتری‌های آزاد در دسترس برای شکارچیان. در مطالعات پیشین، در زمینه تأثیر راکتور بی‌هوازی جانبی بر جمعیت شکارچیان میکروبی حوض هوادهی گزارشی ارائه نشده است. با استفاده از میکروسکوپ نوری، محلول لوگول (برای فلج کردن پرتوزوآ) و لام نئوبار، جمعیت پرتوزوآها در پنج گروه شامل: سیلیاته‌های خزنده (Free swimming ciliates)، سیلیا ته‌های چسبیده (Attached ciliates)، روتیفرها (Rotifers)، تازک‌داران (Flagellates) و پرتوزوآهای خورشیدی (Heliozoa) شمارش و بررسی شدند. پرتوزوآها از ذرات آلی معلق و یا باکتری‌ها تغذیه می‌کنند، لذا از آنها عضوی مهم در سیستم‌های تصفیه فاضلاب لجن فعال برای زلال‌سازی جریان پساب خروجی [31] و همچنین کاهش لجن مازاد هستند.

## ۴- نتیجه گیری

تولید لجن یکی از مشخصه‌های خاص فرآیندهای تصفیه بیولوژیکی فاضلاب می‌باشد. مقدار تولید لجن بیولوژیکی و مشخصات کیفی آن علاوه بر ویژگی‌های کمی و کیفی فاضلاب به فرآیند تصفیه و شرایط راهبری آن بستگی دارد. از معایب عمده فرآیندهای هوازی تصفیه بیولوژیکی، تولید حجم نسبتاً بالای لجن مازاد است. فرآیند کانیبال به دلیل پایین بودن هزینه‌های ساخت و راهبری و همچنین سادگی طراحی، از جمله سیستم‌هایی است که به تازگی مورد توجه بیشتر پژوهشگران قرار گرفته است. در فاز اول این پژوهش با استفاده از فرآیند کانیبال به کاهش لجن مازاد تولیدی پرداخته شد، در فاز دوم با اضافه کردن یک راکتور پیش تصفیه هوازی شامل دانه‌های QQ، سازوکار شکار میکروبی افزایش یافت و کاهش شدید ضریب  $Y_{obc}$  را به دنبال داشت. همانطور که انتظار می‌رفت تخریب پدیده حد نصاب احساس در راکتور پیش تصفیه منجر به افزایش باکتری‌های آزاد شده و بدین ترتیب موقعیت را برای شکارچیان در راکتور هوازی فراهم کرده است با شمارش جمعیت یوکاریوت‌های شکارچی نتیجه گرفته شد سازوکار شکار میکروبی در سیستم افزایش یافته و به دنبال آن راندمان سیستم بهبود یافته است.

## ۵. مراجع

- [5] Novak, J. T., Chon, D. H., Cur2s, B. A., Doyle, M., 2006, Reduc2on of Sludge Genera2on Using the Cannibal Process: Mechanisms and Performance, in: Residuals and Bio-solids management Conference.
- [6] Chudoba, P., Chudoba J., Capdeville B., (1992), The Aspect of Energe2c Uncoupling of Microbial Growth in the Activated Sludge Process-OSA system, Wat. Sci. Tech., 26, 2477-2480.
- [7] Huang, X., Liang, P., Qian, Y., (2007), Excess sludge reduc2on induced by Tubifex in a recycled sludge reactor, Journal of Biotechnology, 127, 443-451.
- [8] J.T. Novak, D.H. Chon, B.A. Curtis, M. Doyle, Biological solids reduction using the Cannibal process, Water Environ. Res. 79 (2007) 2380-2386. doi:10.2175/106143007x183862.
- [9] L. Sun, C.W. Randall, J.T. Novak, The influence of sludge interchange times on the oxic-settling-anoxic process, Water Environ. Res. 82 (2010) 519-523.
- [10] A. Takdastan, F. Karimi, N. Orooji, Effect of Oxic-Settling Anoxic Process on Operation Parameters and Biological Excess Sludge Reduction in Sequencing Batch Reactor Activated Sludge, J. Maz. Univ. Med. Sci. 28 (2018).
- [11] Fuqua, W. C., Winans, S. C., Greenberg, E. P., (1994), Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcrip2onal regulators, Journal of Bacteriology, 176, 269-275.
- [12] Hooshangi, S., Bentley, W. E., (2008), From unicellular proper2es to mulcellular behavior: bacteria quorum sensing circuitry and applica2ons, Current opinion in biotechnology, 19,555-550.
- [13] Hu, J. Y., Fan, Y., Lin, Y. H., Zhang, H. B., Ong, S. L., Dong, N., Xu, J. L., Ng, W. J., Zhang, L. H., (2003), Microbial diversity and prevalence of virulent pathogens in biofilms developed in a water reclama2on system, Research in microbiology, 154, 623-629.
- [14] Cheong, W.-S., Lee, C.-H., Moon, Y.-H., Oh, H.-S., Kim, S.-R., Lee, S. H., Lee, C. H., Lee, J.-K., (2013), Isola2on and Identification of Indigenous Quorum Quenching Bacteria, Pseudomonas sp. 1A1, for Biofouling Control in MBR, Industrial & Engineering Chemistry Research, 52, 10554-10560.
- [15] Salehiziri M, Amini H, Novak JT. Disruption of cell to cell communication in the aeration
- [1] Wei Y, Van Houten RT, Borger AR, Eikelboom DH, Fan Y. Minimization of excess sludge production for biological wastewater treatment. Water Res. 2003;37(18):4453-67.
- [2] Erden G, Demir O, Filibeli A. Disintegration of biological sludge: Effect of ozone oxidation and ultrasonic treatment on aerobic digestibility. Bioresour Technol. 2010;101(21):8093-8.
- [3] Spinosa, L., Vesilind, P. A., Sludge into biosolids: processing, disposal and utilization, IWA Publishing, UK, 2001.
- [4] Chudoba, P., Chudoba J., Capdeville B., (1992), The Aspect of Energe2c Uncoupling of Microbial Growth in the Activated Sludge Process-OSA system, Wat. Sci. Tech., 26, 2477-2480.

- [25] C.H. Tan, K.S. Koh, C. Xie, M. Tay, Y. Zhou, R. Williams, W.J. Ng, S.A. Rice, S. Kjelleberg, The role of quorum sensing signalling in EPS production and the assembly of a sludge community into aerobic granules, *ISME J.* 8 (2014) 1186–1197. doi:10.1038/ismej.2013.240.
- [26] A.J. Silva, J.A. Benitez, J.H. Wu, Attenuation of bacterial virulence by quorum sensing-regulated lysis, *J. Biotechnol.* 150 (2010) 22–30. doi:10.1016/j.jbiotec.2010.07.025.
- [27] H.S. Oh, S.R. Kim, W.S. Cheong, C.H. Lee, J.K. Lee, Biofouling inhibition in MBR by *Rhodococcus* sp. BH4 isolated from real MBR plant, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97 (2013) 10223–10231. doi:10.1007/s00253-013-4933-7.
- [28] N. Bouayed, N. Dietrich, C. Lafforgue, C.H. Lee, C. Guigui, Process-oriented review of bacterial quorum quenching for membrane biofouling mitigation in membrane bioreactors (MBRs), *Membranes* (Basel). 6 (2016). doi:10.3390/membranes6040052.
- [29] L. SHAO, P. HE, G. YU, P. HE, Effect of proteins, polysaccharides, and particle sizes on sludge dewaterability, *J. Environ. Sci.* 21 (2009) 83–88. doi:10.1016/S1001-0742(09)60015-2.
- [30] P. Madoni, Estimates of ciliated protozoa biomass in activated sludge and biofilm, *Bioresour. Technol.* 48 (1994) 245–249. doi:10.1016/0960-8524(94)90153-8.
- [31] W. Pauli, K. Jax, S. Berger, Protozoa in Wastewater Treatment: Function and Importance, *Handb. Environ. Chem. Vol. 2 Part K.* 2 (2001) 203–252. doi:10.1007/10508767-3.
- unit of a cannibal process: Sludge reduction efficiency and related mechanisms. *Biochem Eng J.* 2018;137:326–33.
- [16] Salehiziri M, Amini H, Novak JT. Chemosphere Preliminary investigation of quorum quenching effects on sludge quantity and quality of activated sludge process. *Chemosphere.* 2018;209:525–33.
- [17] S.R. Kim, H.S. Oh, S.J. Jo, K.M. Yeon, C.H. Lee, D.J. Lim, C.H. Lee, J.K. Lee, Biofouling control with bead-entrapped quorum quenching bacteria in membrane bioreactors: physical and biological effects, *Environ. Sci. Technol.* 47 (2013) 836–842.
- [18] Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, 1995, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th edition.
- [19] Wang, J., Zhao, Q., Jin, W., Lin, J. (2008). “Mechanism on minimization of excess sludge in oxic settling anaerobic (OSA) process”, *Frontiers of Environmental Science & Engineering in China*, 2(1), 36–43.
- [20] M.F. Dignac, V. Urbain, D. Rybacki, A. Bruchet, D. Snidaro, P. Scribe, Chemical description of extracellular polymers: Implication on activated sludge floc structure, in: *Water Sci. Technol.*, 1998: pp. 45–53. doi:10.1016/S0273-1223(98)00676-3.
- [21] S. R. Kim et al., “Biofouling control with bead-entrapped quorum quenching bacteria in membrane bioreactors: Physical and biological effects, ” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 47, no. 2, pp. 836-842, 2013.
- [22] G.P. Sheng, H.Q. Yu, Characterization of extracellular polymeric substances of aerobic and anaerobic sludge using three-dimensional excitation and emission matrix fluorescence spectroscopy, *Water Res.* 40 (2006) 1233–1239. doi:10.1016/j.watres.2006.01.023.
- [23] X.Y. Li, S.F. Yang, Influence of loosely bound extracellular polymeric substances (EPS) on the flocculation, sedimentation and dewaterability of activated sludge, *Water Res.* 41 (2007) 1022–1030. doi:10.1016/j.watres.2006.06.037.
- [24] Y.C. Li, J.R. Zhu, Role of N-acyl homoserine lactone (AHL)-based quorum sensing (QS) in aerobic sludge granulation, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98 (2014) 7623–7632. doi:10.1007/s00253-014-5815-3.



# The effect of Quorum Quenching System on Microbial Predation mechanism in excess sludge reduction

Pooneh Vosughi<sup>1</sup>, Hassan Amini Rad<sup>\*2</sup>

1 M. SC Student, Environment group. Faculty of civil and environmental Eng., Noshirvani University of technology

2 Assistant professor, Environment Group., Faculty of civil and environmental Eng., Noshirvani University of technology

[h.a.rad@nit.ac.ir](mailto:h.a.rad@nit.ac.ir)

## Abstract

The removal and treatment of sludge from municipal wastewater treatment plants is important due to environmental factors, so there is a significant incentive to discover and develop strategic plans to reduce excess sludge production in sewage treatment processes. Activated sludge system is used as the main biological process for municipal and industrial wastewater treatment and an excess sludge production rate in this process is between 15-100 liters per kilogram of removed BOD<sub>5</sub>. One of The usages an anaerobic reactor in the activated sludge system known as the Cannibal process that is one of the conventional methods used to reduce the sludge production rate at the sewage treatment line, which has low operating costs and relative simplicity to process design. The system's overall reducing efficiency is generally up to 50%. The purpose of this process is less production of sludge and also improvement of wastewater quality. In order to achieve reduction in excess sludge production, different mechanisms are considered which include microbial predation, uncoupling metabolism, endogenous metabolism and lysis-cryptic growth. The microbial predation mechanism is one of the important mechanisms in the cannibal process that is a suitable choice for reduction of excess sludge because of its low strategic cost and environmental compatibility. The objective of this research is the applicability of Quorum quenching (QQ) phenomenon in a conventional Cannibal process for enhancing the microbial predation mechanism to improve the efficiency of reducing sludge and other effective sludge parameters. Quorum sensing system is a new method of managing social behavior of microbial Population. The decomposition of Acyl Homoserine Lactones (AHL) is the most usable and practical way for creating disturbance in Quorum sensing system. For increasing the free bacteria population, Quorum quenching agent is used in the aerobic tank. These enhance microbial predation and show decrease in Extracellular Polymeric Substances (EPS). So far many bacteria with QQ feature are reported in biological wastewater treatment reactors. The basis of this project was designed in two laboratory phases and the reactors were operated with synthetic wastewater. In the first phase, the cannibal process was used in the form of a laboratory reactor, and in the second phase, by installing a separate aeration reactor and adding the *Rhodococcus* sp.BH4 bacteria, a quorum quenching bacteria, in a polymeric structure of alginate and introduced as QQ beads. The modified Cannibal process was designed. Microbial predation mechanism is one the methods that increase population of eukaryotic predators by changing the microbial structure of activated sludge system; by this method, efficiency of reduction of excess sludge production is increased. The results showed that the presence of QQ grains led to an increase in the number of eukaryotic species. The yield coefficient ( $Y_{obs}$ ) in the modified Cannibal and the control Cannibal was 0.389 and 0.092, respectively, with a significant decrease of 77%. Also, the results of EPS, which indicates the proper functioning of this system, has been analyzed and investigated. The applied QQ primary treatment enhances the Microbial predation mechanism in Cannibal system, significantly improve the efficiency of this system, and biological excess sludge notably is decreased.

**Keywords:** Excess Sludge, Cannibal Process, Microbial Predation, Quorum Sensing/Quenching.