

شناسایی گونه باکتری رشته‌ای غالب

در سه تصفیه‌خانه فاضلاب

و مقایسه آن با اندیس حجمی لجن



بیژن بینا^(۱) - حسین موحدیان^(۲)

و شهرام آیرملوزاده^(۳)

خلاصه

در این تحقیق آزمایشات میکروسکوپی بر روی ۲۶ نمونه هفتگی از سه تصفیه‌خانه فاضلاب شمال، جنوب و شاهین شهر اصفهان انجام گرفته و گونه‌های باکتری رشته‌ای غالب در این سه تصفیه‌خانه شناسایی شده‌اند. روش بکار رفته در این تحقیق، روش ساده جنکینز می‌باشد. با استفاده از نتایج رنگ آمیزی گرم، رنگ آمیزی نایسر، آزمایش سولفور، رنگ آمیزی غلاف و جدول راهنما شناسایی باکتری رشته‌ای انجام می‌گیرد. این روش می‌تواند در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب جهت کنترل فرایند تصفیه بکار رود. گونه‌های باکتری رشته‌ای غالب در سه تصفیه‌خانه فاضلاب شمال، جنوب و شاهین شهر به ترتیب گونه‌های ۱۷۰۱، بژیاتوآ و ۰۰۴۱ بوده است.

مقدمه

در لجن فعال باکتری، قارچ، کپک و مخمرها حضور دارند. تحت شرایط مناسب باکتریهای نیترات ساز (نیتروزوموناس^(۴) و نیتروباکتر^(۵)) هم در لجن یافت می‌شوند. لجن فعال گاهی حاوی باکتریهای رشته‌ای نامناسب از قبیل:

اسفروتیلوس ناتانس^(۶)، لپتومیتوس^(۷)، لوکوتریکس^(۸)، تئوتریکس^(۹)، بژیاتوآ^(۱۰)، میکروتربیکس پارویسلا^(۱۱)، نوکاردیا^(۱۲)، فلکسی باکتر^(۱۳)، ویتروزسیلا^(۱۴)، ژئوتریکوم کاندیدیوم^(۱۵)، میکروسسیلا^(۱۶)، لاینلولونگا^(۱۷)، پلانما سابتیلیسوم^(۱۸)، اسپیرولینا آلییدا^(۱۹)، هالیس کامن باکتر هیدروسیس^(۲۰)، نستوکویدا لیمیکولا^(۲۱) و غیره می‌باشد.

ارگانیسیمهای رشته‌ای در غلظت زیاد مشکلات عمده‌ای در امر ته‌نشینی و تغلیظ لجن بوجود می‌آورند.

ارگانیسیمهای بزرگتر مانند پروتوزوا، روتیفر، کرمها و غیره بطور عادی در لجن فعال وجود دارند. ترکیب کمی و کیفی لجن فعال به سوبسترای که جهت تغذیه استفاده

می‌شود و پارامترهای تکنولوژیکی فرایند بخصوص زمان ماند جامدات بستگی دارد. همچنین عواملی از قبیل غلظتهای واقعی سوبسترا، اکسیژن محلول، درجه حرارت و محدوده pH بر روی انتخاب‌گونه‌های مختلف تأثیر می‌گذارد.

هسته اصلی فرایند تصفیه، لخته‌های لجن فعال است.

غالباً پایین بودن کیفیت پساب خروجی مستقیماً به واسطه

۱. عضو هیئت علمی دانشکده بهداشت اصفهان
۲. عضو هیئت علمی دانشکده بهداشت اصفهان
۳. کارشناس ارشد بهداشت محیط معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی ایران

- | | |
|---------------------------------|---------------------------|
| 4- Nitrosomonas | 5- Nitrobacter |
| 6- Sphaerotilus Natans | 7- Leptomitux |
| 8- Leucothrix | 9- Thiothrix |
| 10- Beggiatoa | 11- Microthrix Parvicella |
| 12- Nocardia | 13- Flexibacter |
| 14- Vitreoscilla | 15- Geotrichum Candidum |
| 16- Microscilla | 17- Lineola Longa |
| 18- Pelonema Subtilissum | 19- Spirulina Albida |
| 20- Haliscomenobacter hydrossis | |
| 21- Nostocoida Limicola | |

نامساعد بودن لخته‌های لجن می‌باشد. با این وجود استاندارد روش تحقیقی که امروزه به منظور کنترل فرایند تصفیه به کار می‌رود شامل انجام آزمایشات فیزیکی و شیمیایی بر روی فاضلاب ورودی و پساب خروجی می‌باشد. به همین علت پرسنل بهره بردار اطلاعات اندکی از کیفیت لجن در واحد خودشان دارند. در نتیجه این ناآگاهی، آنها از تشریح علل مشکلات موجود در فرایند تصفیه عاجز می‌باشند. برای انجام آزمایش میکروسکوپی بر روی لجن، اطلاع از کیفیت واقعی لخته‌ها لازم است. علاوه بر این برای کنترل صحت مراحل فرایند تصفیه و کسب آگاهی از افت کیفیت لجن قبل از آنکه باعث بروز مشکلات در مقیاس وسیع بشود انجام آزمایش میکروسکوپی بطور منظم ضروری است. انجام آزمایش میکروسکوپی می‌تواند تأثیر تغییرات اعمال شده به فرایند را نشان دهد.

دستگاهها و روشها

دستگاه اصلی مورد نیاز برای انجام آزمایش میکروسکوپی لجن فعال، میکروسکوپ نوری می‌باشد. در این تحقیق از میکروسکوپ Olympus, CH, 2 استفاده شده که دارای بزرگنمایی ۱۰۰، ۴۰۰ و ۱۰۰۰ می‌باشد. قطر و طول ارگانیسیمهای رشته‌ای به وسیله اوکولرولام مدرج اندازه‌گیری شده است.

شناسایی ارگانیسیمهای رشته‌ای معمولاً به وسیله دو نوع رنگ آمیزی گرم و نایسر انجام می‌گیرد. روشهای رنگ آمیزی اضافی که در تشخیص دقیقتر بکار می‌رفته عبارت است از: رنگ آمیزی غلاف با استفاده از محلول کریستال ویلوله ۱/۰٪ و آزمایش اکسیداسیون سولفور در گرانولهای داخل سلولی.

نتایج

الف - نتایج بدست آمده از تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان:

طی آزمایشات میکروسکوپی که بر روی ۲۶ نمونه هفتگی از تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان انجام گرفت نتایج زیر

بدست آمد.

- ۱- سلایته‌های شناور آزاد به وفور مشاهده شد. سلایته ساقه‌دار نیز به تعداد زیاد وجود دارد.
- ۲- ساختار لخته محکم و فشرده می‌باشد.
- ۳- ساختمان لخته از نوع گسترده است.
- ۴- فراوانی رشته در حد خیلی شایع است.
- ۵- انشعاب وجود ندارد.
- ۶- تحرک وجود ندارد
- ۷- شکل رشته منحنی شکل یا خمیده می‌باشد.
- ۸- رنگ رشته روشن است.
- ۹- وضعیت رشته‌ها غالباً به هم پیچیده‌اند و در داخل لخته یافت می‌شود فقط مقدار کمی از رشته‌ها از لخته خارج شده و گاهاً در داخل مایع لجن آزاد است.
- ۱۰- رشته چسبنده باکتریهای تک سلولی اپی فیتیک در اغلب موارد دیده می‌شود.

۱۱- غلاف به صورت شفاف و بسیار تنگاتنگ وجود دارد.

۱۲- دیواره عرضی به وضوح مشاهده می‌شود و دندانهای شکل است.

۱۳- قطر سلول کمتر از یک میکرون است.

۱۴- طول رشته نسبتاً کوتاه بین ۱۰۰-۱۰ میکرون می‌باشد

۱۵- ذخیره سولفور وجود ندارد و به تست پاسخ نمی‌دهد.

۱۶- شکل سلول به صورت قطعات ته گرد می‌باشد

۱۷- باکتری رشته‌ای گرم منفی و نایسر منفی است.

با توجه به نتایج بدست آمده از آزمایش میکروسکوپی و به کمک کلید شناسایی گونه باکتری رشته‌ای غالب موجود در تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان گونه ۱۷۰۱ می‌باشد که شکل آنها در تصویر ۱ و ۲ دیده می‌شود.

متوسط اندیس حجمی لجن (SVI) تصفیه‌خانه فاضلاب شمال در طی دوره مطالعه ۲۲۲ میلی لیتر بر گرم بوده است.

ب - نتایج بدست آمده از تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان

۱- سلایته شناور آزاد و سلایته ساقه‌دار به وفور مشاهده شد.

۲- فراوانی رشته در حد خیلی شایع است.

۳- بافت لخته گرد، محکم و فشرده می باشد.

۴- انشعاب وجود ندارد.

۵- تحرک رشته به وضوح قابل رویت است و به شکل سرخوردن و خم شدن حرکت می کند.

۶- شکل رشته مستقیم است.

۷- رنگ رشته روشن است.

۸- وضعیت رشته: رشته‌ها اغلب در داخل لجن گسترده می باشند.

۹- رشد چسبنده باکتری تک سلولی اپی فیتیک وجود ندارد.

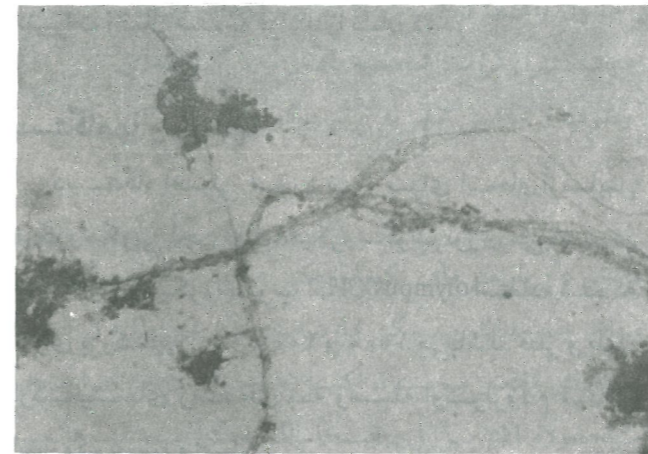
۱۰- غلاف دیده نشد.

۱۱- دیواره عرضی وجود ندارد.

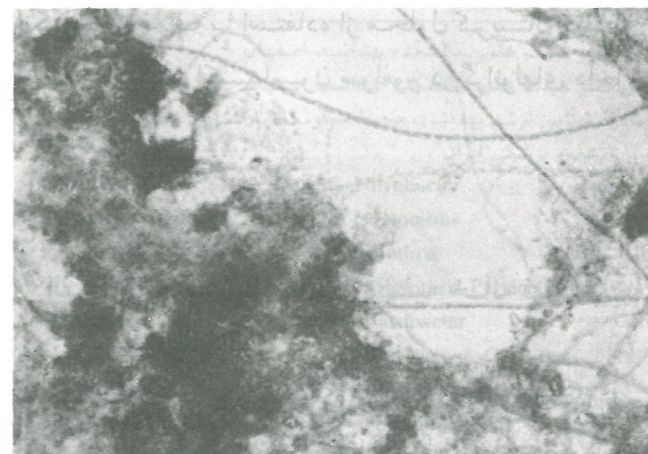
۱۲- عرض رشته‌ها ۳-۱ میکرون و طول آنها ۵۰۰-۱۰۰ میکرون می باشد.

۱۳- عموماً سلولها حاوی گرانولهای سولفور گرد به مقدار زیاد می باشند و تست سولفور مثبت است.

۱۴- باکتری رشته‌ای گرم منفی و نایسر منفی است با توجه به این نتایج و با کمک کلید راهنمای شناسایی، گونه باکتری رشته‌ای غالب موجود در تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان، گونه بژیاتوآ می باشد. متوسط اندیس حجمی لجن در این تصفیه‌خانه در طی دوره مطالعه ۲۵۰ میلی لیتر برگرم بوده است.



رنگ آمیزی گرم نمونه فاضلاب تصفیه‌خانه شمال



رنگ آمیزی گرم نمونه فاضلاب تصفیه‌خانه جنوب

ج- نتایج بدست آمده از تصفیه‌خانه فاضلاب شاهین شهر:

۱- سلایته شناور آزاد و سلایته ساقه‌دار به وفور مشاهده شد.

۲- روتیفر در محلول لجن یافت می شود.

۳- فراوانی رشته در حد معمول (عادی) است.

۴- بافت لخته گرد، محکم و فشرده است.

۵- تحرک رشته وجود ندارد.

۶- شکل رشته مستقیم، کمی خمیده یا خمیده می باشد.

۷- رنگ رشته روشن است.

۸- وضعیت رشته‌ها: اغلب رشته‌ها در داخل لخته دیده می شوند و به ندرت در داخل محلول لجن یافت می شوند.

۹- رشد چسبنده باکتریهای تک سلولی اپی فیتیک وجود ندارد.

۱۰- رشته دارای یک غلاف نازک می باشد که به سختی قابل رویت است.

۱۱- دیواره عرضی بدون دندان می باشد.

۱۲- طول رشته‌ها ۵۰۰-۱۰۰ میکرون و عرضشان ۱/۴ الی ۱/۶ میکرون است.

۱۳- گرانولهای سولفور وجود ندارد و سولفور تست منفی است.

۱۴- باکتری رشته‌ای غالب گرم مثبت ضعیف یا گرم متغیر می باشد. زمانی که در داخل فلاک یافت می شود گرم مثبت است و زمانی که در داخل محلول لجن پراکنده شده گرم منفی مشاهده می شود.

۱۵- لایه پوشاننده (ارغوانی روشن) نایسر مثبت مشاهده می شود.

با توجه به این نتایج و به کمک کلید راهنمای شناسایی، گونه باکتری رشته‌ای غالب موجود در تصفیه‌خانه فاضلاب شاهین شهر گونه ۰۰۴۱ می باشد.

متوسط اندیس حجمی لجن (SVI) در طی دوره تحقیق ۱۷۱ میلی لیتر برگرم بوده است.

بحث و نتیجه گیری

نمونه‌های هفتگی برداشت شده از انتهای حوضچه هوادهی سه تصفیه‌خانه فاضلاب اصفهان وجود محیط کشت مخلوط از انواع مختلف باکتریهای رشته‌ای را نشان داد و در هیچ کدام از این تصفیه‌خانه‌ها نمی توان گفت که یک گونه باکتری رشته‌ای به تنهایی وجود دارد.

شناسایی کلیه این گونه‌ها نیاز به تخصص میکروبیولوژیکی و محیط کشتهای افتراقی دارد تا بتوان آنها را جدا کرده و تک تک مورد شناسایی قرار داد و بایستی اقرار کرد که این کار بسیار مشکل و تخصصی می باشد و محیط کشتهای اختصاصی کلیه این ارگانیسماهای رشته‌ای شناسایی نشده است.

روشی که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفته است، روش جنکینز و همکارانش می باشد که یک روش ساده میکروسکوپی است و به تخصص ویژه نیاز ندارد. این روش برای مسئولین آزمایشگاه تصفیه‌خانه‌های فاضلاب روش بسیار مناسب است که می توانند به سهولت فراگیرند و بطور مرتب انجام دهند. با این روش می توانند در یک محیط کشت مایع مخلوط لجن فعال، گونه باکتری رشته‌ای غالب را شناسایی نمایند.

این شناسایی با توجه به نتایج آزمایشات رنگ آمیزی و مشاهدات عینی خصوصیات ظاهری باکتری رشته‌ای غالب با توجه به شکل راهنما انجام می گیرد.

پس از شناسایی گونه غالب باکتری رشته‌ای با انتخاب روش مخصوص مبارزه با آن می توان رشد آن را محدود و میزان SVI را کاهش داد و از بوجود آمدن بالکینگ جلوگیری نمود. روشهای مخصوص مبارزه با گونه غالب باکتریهای رشته‌ای را می توان از نتایج تجربیات عملی که دانشمندان بر روی تصفیه‌خانه‌های فاضلاب در سطح جهان انجام داده‌اند بدست آورد. بطور مثال با افزایش میزان هوادهی می توان رشد هالیس کامن باکتر و نوع ۱۷۰۱ را محدود نمود.

همان طور که از جدول مشخص است تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شمال و جنوب اصفهان با پدیده بالکینگ مواجه می باشند. بژیاتوآ که گونه باکتری رشته‌ای غالب در

نتیجه تحقیقات را می توان به صورت زیر طبقه بندی نمود :

نام تصفیه خانه	گونه باکتری رشته ای غالب	گونه باکتری رشته ای مغلوب	مقدار متوسط SVI
شاهین شهر	۰۰۴۱	بژیاتوآ	۱۷۱
شمال اصفهان	۱۷۰۱	هالیس کامن باکترهیدروسیس	۲۲۲
جنوب اصفهان	بژیاتوآ	۱۷۰۱	۲۵۰

اضافی محدود نمود و به راحتی SVI را به حد استاندارد رساند.

تصفیه خانه فاضلاب شاهین شهر فعلاً در شرایط خوبی به سر می برد و SVI آن در محدوده مجاز (۱۵۰-۲۰۰) می باشد ولی بایستی با انجام آزمایشات میکروسکوپی از تغییر حالت شرایط فعلی آگاه شد و در مورد پیشگیری آن سریعاً اقدام کرد زیرا بژیاتوآ که در حالت مغلوب در این تصفیه خانه حضور دارد، با افزایش سولفور و سبتیک شدن فاضلاب می تواند غالب شود و با افزایش SVI شرایطی همانند تصفیه خانه جنوب را ایجاد نماید.

اقدامات پیشگیری خیلی کم هزینه تراز اقدامات رفع مشکل پس از بروز آن است.

برای پیشگیری از بروز مشکلات بهره برداری بایستی ضمن انجام آزمایشات شیمیایی و میکروسکوپی، از ورود فاضلاب صنعتی بدون تصفیه مقدماتی و با شرایط غیر استاندارد به سیستم جمع آوری فاضلاب خانگی ممانعت نمود.

تصفیه خانه فاضلاب جنوب اصفهان می باشد در محیطی که حاوی سولفور باشد و فاضلاب به صورت سبتیک بوده بیش از حد رشد می کند و با ورود به مایع لجن بین فلاکها پل می زند (bridging) و به سهولت می تواند لجن را حجیم نموده و ایجاد بالکینگ نماید. راه مبارزه با این باکتری رشته ای حذف S^{2-} از طریق هوادهی و ترسیب شیمیایی است. در تصفیه خانه فاضلاب جنوب بهترین راه حل پیش هوادهی فاضلاب ورودی است زیرا ترسیب شیمیایی در حجم زیاد فاضلاب موجود پرهزینه می باشد و ترسیب شیمیایی سولفور بهتر است در محل صنایعی که فاضلاب صنعتی حاوی سولفور را وارد سیستم جمع آوری فاضلاب شهری می نمایند توسط خود صنایع صورت پذیرد و آنها را موظف نمود تا میزان سولفور پساب خود را به حد استاندارد برسانند.

در تصفیه خانه شمال اصفهان گونه ۱۷۰۱ به صورت غالب و گونه هالیس کامن باکترهیدروسیس به صورت مغلوب وجود دارد که رشد هر دو آنها را می توان با هوادهی

- 1- Jenkins, D., Richard, M. G. & Nathling, J. B. "Manual on the Causes and Control of Activated Sludge Bulking and Foaming." (University of California, Berkeley, U.S.A.) 1986.
- 2- "Wastewater Engineering Treatment, Disposal & Reuse", Third Edition, Metcalf & Eddy, Inc. 1991.
- 3- "Operation of Wastewater Treatment Plants" volume 2, U. S. Environmental Protection Agency Office of Water Programs 1991.
- 4- "Activated Sludge Process Design and Control" volume 1, W. Wesley Eckenfelder, D. Sc, P.E. Petr Grau, D. Sc. B 1992.