

## ارزیابی کارآمدی سامانه نوآورانه هیبریدی فرایند تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی با هدف تولید بیوهیدروژن و بهبود عملکردی فرایند آبیگری لجن‌های اولیه و مازاد بیولوژیکی فاضلاب فاطمه شکری داریان<sup>۱</sup>، گائیک بدلیانس قلی‌کندی<sup>۱\*</sup>، بیژن یگانه<sup>۱</sup>، احسان آقایی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه مهندسی آب، فاضلاب و محیط زیست، دانشکده مهندسی عمران، آب و محیط زیست، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.  
<sup>۲</sup> مرکز تحقیقات آلاینده‌های محیطی، دانشگاه علوم پزشکی آبدان، آبادان، ایران.

### مقاله پژوهشی

#### چکیده

**زمینه و اهداف:** تولید بیوهیدروژن از لجن فاضلاب، راهکاری دوگانه برای تأمین انرژی پایدار و مدیریت مؤثر پسماند به شمار می‌رود. هدف از این پژوهش، امکان‌سنجی به کارگیری روش ترکیبی فرایند تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی با هدف افزایش بازده تولید هیدروژن و ارتقای همزمان کارآمدی مرحله آبیگری لجن فاضلاب شهری است.

**مواد و روش‌ها:** نمونه‌های لجن اولیه و لجن مازاد بیولوژیکی از تصفیه‌خانه جنوب تهران (واحدهای ۱ تا ۴) برداشت شدند و مورد پیش تصفیه حرارتی قرار گرفتند. سپس به سامانه‌های فرایند تخمیر تاریکی و ترکیبی فرایند تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی تک مرحله‌ای منتقل شدند. بازده تولید بیوهیدروژن و کارایی فرایند آبیگری بر اساس پارامترهای مقدار pH، اسیدهای چرب فرار، میزان تولید هیدروژن، مقاومت ویژه فیلتراسیون، زمان مکش موئینه‌ای و ویژگی‌های ساختار مواد پلیمری برون سلولی بررسی شد. این پژوهش با پایبندی کامل به اصول و ملاحظات اخلاقی در تمام مراحل انجام شد.

**یافته‌ها:** سامانه ترکیبی موجب افزایش قابل توجه بازده تولید هیدروژن در pH برابر ۶، در لجن اولیه ۳۸/۱۳ و در لجن مازاد بیولوژیکی ۱۹/۶۶ میلی‌لیتر بر گرم جامدات فرار نسبت به فرایند تخمیر تاریکی گردید. همچنین، این سامانه سبب تخریب لجن و آزادسازی آب محبوس گردید؛ به طوری که کارایی آبیگری پذیر لجن خروجی از آن ارتقا یافت.

**نتیجه‌گیری:** به کارگیری سامانه ترکیبی به همراه پیش تصفیه حرارتی، ضمن افزایش بازده تولید بیوهیدروژن، عملکرد فرایند آبیگری لجن فاضلاب شهری را بهبود می‌بخشد و می‌تواند به عنوان راهکاری کارآمد برای مدیریت بهینه لجن فاضلاب و تأمین انرژی پاک مطرح شود.

**کلید واژه‌ها:** تصفیه لجن؛ فرایند تخمیر تاریکی؛ سلول الکترولیز میکروبی؛ تولید بیوهیدروژن؛ آبیگری پذیر.

**Please cite this article as:** Shokri Dariyan F, Badalians Gholikandi G, Yeganeh B, Aghayani E. Performance evaluation of an innovative hybrid dark fermentation–microbial electrolysis cell system for bio hydrogen production and sludge dewater ability improvement using primary and waste activated sludge. Journal of Health in the Field 2025; 13(3):3-18. **Doi:** <https://doi.org/10.22037/jhf.v13i3.51603>

\*نویسنده مسئول: گروه مهندسی آب، فاضلاب و محیط زیست، دانشکده مهندسی عمران، آب و محیط زیست، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

Email: [g\\_badalians@sbu.ac.ir](mailto:g_badalians@sbu.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۰۹/۱۳

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۴/۱۲/۰۵

## مقدمه

در دهه اخیر، به دلیل افزایش میزان تقاضای تامین انرژی از یک سو و تلاش برای دستیابی به منابع انرژی پاک و تجدیدپذیر با قابلیت اطمینان تامین مستمر و مقرون به صرفه مطابق با اهداف الگوی توسعه پایدار از سوی دیگر، توجه محققین و صنعتگران را به تولید هیدروژن سبز (بیوهیدروژن) جلب نموده است. هیدروژن به دلیل عدم انتشار کربن و برخورداری از پتانسیل بالای انرژی برابر حدود ۱۴۲ کیلوژول بر گرم که تقریباً سه برابر سوخت‌های فسیلی مصرفی متداول است، به عنوان یکی از منابع مهم مورد استفاده در صنعت تامین انرژی در آینده به شمار می‌رود. نتایج پیش‌بینی‌ها بیانگر افزایش ممکن تقاضای جهانی هیدروژن تا سال ۲۰۵۰ تا ده برابر هستند که بدین ترتیب، ممکن است میزان تقاضا به حدود ۶۵۰ میلیون تن در سال برسد؛ رشدی که اهمیت توسعه فناوری‌های تولید هیدروژن پاک را بیش از پیش برجسته می‌سازد [۱،۲]. در این راستا، تولید بیوهیدروژن از پسماندهای زیستی تجدیدپذیر به عنوان رویکردی امیدبخش برای تامین پایدار انرژی و در عین حال، دستیابی به مدیریت بهینه پسماندهای آلی مورد توجه محققان قرار گرفته است [۳]. لجن فاضلاب، یکی از مهم‌ترین انواع این پسماندها، محصول جانبی مراحل تصفیه‌خانه‌های فاضلاب (خط مایع) است که ممکن است حاوی انواعی از آلاینده‌های آلی، مواد معدنی، پاتوژن‌ها، فلزات سنگین و ... باشد [۴]. در صورت عدم تصفیه کارآمد این لجن مازاد، آلاینده‌های موجود در آن به محیط‌زیست تخلیه شده و تهدیدی جدی برای سلامت انسان و آلودگی زیست بوم‌ها ایجاد خواهند کرد [۵]. از سوی دیگر، هزینه‌های تصفیه و دفع لجن تا حدود ۴۰ درصد هزینه کل سرمایه‌گذاری و ۵۰ درصد هزینه‌های عملیاتی (بهره برداری، نگهداری و تعمیرات) تصفیه‌خانه‌ها برآورد شده‌اند و روش‌های متعارف معمول مانند دفن یا سوزاندن آن نیز پاسخگوی نیازهای زیست محیطی و اقتصادی در آینده نخواهد بود. در حال حاضر بخش بزرگی از لجن فاضلاب شهری در بسیاری از کشورها به‌طور بهینه مدیریت نشده و همچنان ممکن است حاوی مقادیر زیادی ترکیبات آلی پیچیده و عناصر مغذی باشد [۶]. از این رو، رویکرد توجه به لجن فاضلاب به عنوان یک منبع ارزشمند برای تولید بیوهیدروژن می‌تواند راهکاری کارآمد برای دستیابی هم‌زمان به اهداف کاهش آلودگی و بازیابی انرژی باشد.

فناوری‌های زیستی متنوعی برای تولید بیوهیدروژن از پسماندهای زیستی توسعه یافته‌اند که از میان آن‌ها فرایندهای تخمیر تاریکی و نوری، همچنین سامانه‌های بیوالکتروشیمیایی مانند سلول‌های الکترولیز میکروبی از جایگاه ویژه‌ای برخوردارند. در فرآیند تخمیر تاریکی، باکتری‌های بی‌هوازی ترکیبات آلی پیچیده را به اسیدهای چرب فرار تبدیل می‌کنند و این پساب تخمیری می‌تواند در سلول‌های الکترولیز میکروبی برای تولید بیشتر هیدروژن مورد استفاده قرار گیرد. سلول‌های الکترولیز میکروبی، به‌دلیل کارایی بالا در تبدیل بستر (مانند لجن

فاضلاب شهری) و مصرف انرژی کمتر در مقایسه با فرایند الکترولیز آب، به عنوان گزینه‌ای کارآمد برای افزایش بازده تولید هیدروژن مطرح شده‌اند [۷]. با این حال، تخمیر تاریکی به عنوان مرحله نخست زنجیره فرایندی تولید با محدودیت‌هایی همچون بازده پایین هیدروژن، تجمع اسیدهای چرب فرار و ایجاد شرایط رقابتی برای میکروارگانیسم‌ها، به‌ویژه حضور باکتری‌های متان ساز مواجه است که قادرند از هیدروژن تولیدی استفاده کرده و آن را به متان تبدیل کنند [۸،۹]. پیچیدگی ساختار لخته‌های زیستی لجن نیز دسترسی آنزیمی و میکروبی به مواد آلی را محدود کرده و تجزیه‌پذیری را کاهش می‌دهد. از این رو، اعمال پیش‌تیمارهای مؤثر برای تجزیه ساختار لجن، آزادسازی محتوای درون‌سلولی و مهار باکتری‌های متان‌ساز رویکردی ضروری محسوب می‌شود [۱۰].

نتایج پژوهش‌های متعدد نشان داده‌اند که پیش‌تیمارهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی ممکن است، ساختار ماتریسی لجن را تخریب کرده و قابلیت زیست دسترسی بستر را افزایش دهند [۱۱،۱۲]. در میان این روش‌ها، پیش‌تیمارهای فیزیکی مانند تیمار حرارتی با دماهای بیش از ۷۰ درجه سانتی‌گراد نتایج امیدوارکننده‌ای در شکستن فلوک‌ها و بهبود هیدرولیز ارائه کرده‌اند [۱۳]. همچنین، ادغام تخمیر تاریکی با سلول‌های الکترولیز میکروبی به‌عنوان راهکاری دو مرحله‌ای می‌تواند موانع ترمودینامیکی تبدیل متابولیت‌هایی مانند استات را رفع کرده و بازده نظری تولید هیدروژن را تا ۱۲ مول هیدروژن به‌ازای هر مول گلوکز افزایش دهد، هرچند عملکرد سلول الکترولیز میکروبی به نوع و ویژگی بستر بسیار وابسته است [۱۴،۱۷]. سلول‌های الکترولیز میکروبی تک محفظه‌ای، با ساختار ساده‌تر و مقاومت داخلی کمتر، امکان تولید هیدروژن را با هزینه پایین‌تر فراهم می‌کنند. در همین حال، انتخاب الکترودهای رسانا، متخلخل و دارای فعالیت الکتروکاتالیستی بالا نقشی اساسی در افزایش کارایی سامانه دارد [۱۵]. در کنار این چالش‌ها و فرصت‌ها، مدیریت بهینه خط تصفیه لجن در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب نیازمند توجه لازم به کارآمدی مراحل تغلیظ و آبگیری نیز هست. آبگیری مؤثر نقش مهمی در کاهش حجم، کاهش هزینه‌های حمل و نقل و بهبود عملکرد کلی خط تصفیه لجن تصفیه‌خانه‌ها دارد، اما به‌دلیل ساختار کلوئیدی و پایداری ذرات ریز، به‌ویژه در رابطه با لجن مازاد بیولوژیکی، فرایند جداسازی آب از آن اغلب دشوار و پرهزینه است [۱۶]. به منظور افزایش کارایی آبگیری، روش‌های تقویتی متعددی توسعه یافته‌اند که یکی از مهم‌ترین آن‌ها استفاده از فناوری‌های الکتروشیمیایی است. در فرایند الکترولیز لجن به دلیل اعمال جریان الکتریکی، تخریب مواد پلیمری برون سلولی، شکستن فلوک‌ها و کاهش مقاومت ویژه فیلتراسیون حاصل شده و در نتیجه، آبگیری پذیری لجن به میزان قابل توجهی بهبود می‌یابد [۱۷]. همچنین فرایندهای الکتروشیمیایی با تخریب غشاهای سلولی، آزادسازی آب محبوس و کاهش چسبندگی

الک عبور داده و همگن‌سازی شدند تا ذرات درشت حذف شده و نمونه‌های یکنواخت به دست آید. سپس نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و حداکثر به مدت یک ماه نگهداری شدند. این روش ضمن حفظ ساختار اجتماع میکروبی، فعالیت متابولیکی را به حداقل می‌رساند.

### آماده‌سازی و پیش تصفیه حرارتی بستر

برای پیش تصفیه حرارتی، ۵۰۰ میلی‌لیتر نمونه‌های لجن (اولیه، مازاد بیولوژیکی) در ظروف ۱ لیتری به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد بدون اختلاط حرارت‌دهی شد. هدف از این روش، تخریب ماتریس سلولی و حل شدن ماده آلی بود تا دسترسی باکتری‌های تولیدکننده هیدروژن به بستر افزایش یابد [۲۰].

### طراحی و مراحل اجرای آزمایش‌ها

راکتورهای استوانه‌ای با حجم ۷۵۰ میلی‌لیتر تهیه شدند. آزمایش‌ها در دو مرحله طراحی و انجام شدند: (۱) تخمیر تاریکی و (۲) ترکیب فرایند تخمیر تاریکی با سلول الکترولیز میکروبی. در مرحله ترکیبی، هر راکتور آزمایشگاهی مجهز به دو الکتروود از جنس فولاد ضد زنگ به عنوان آند و کاتد، با فاصله ۴ سانتی‌متر مورد استفاده قرار گرفت. الکتروودها به منبع تغذیه با جریان مستقیم متصل شدند. در مرحله نخست برای اجرای فرایند تخمیر تاریکی و فرایند ترکیبی، تلقیح (۲۰٪) با بستر (۸۰٪) مخلوط شد و راکتورها به مدت ۱۰ دقیقه تحت گاز نیتروژن قرار گرفتند تا شرایط بی‌هوازی برقرار شود. سپس راکتورها با روغن سیلیکون، مهر و موم شده، با فویل آلومینیومی پوشانده و به مدت ۷ روز در حمام آب با دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و با مقادیر pH مختلف انکوبه شدند. راکتورهای فرایند ترکیبی علاوه بر شرایط ذکر شده تحت اعمال ولتاژ ثابت برابر ۱ ولت نیز قرار گرفتند. قابل ذکر است که مرحله سازگاری به مدت یک ماه به طول انجامید. بیوگاز تولید شده با فرض غالب بودن هیدروژن و دی‌اکسیدکربن، از محلول ۳ مولار سود عبور داده شد تا دی‌اکسیدکربن جذب و گاز باقی مانده به عنوان بیوهیدروژن خالص در نظر گرفته شود [۲۱]. شماتیک سامانه هیبریدی تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی در شکل شماره ۱ آورده شده است.

### روش‌های آزمون

میزان pH با استفاده از pH متر مدل WTW اندازه‌گیری شد و قبل از استفاده با محلول بافر کالیبره گردید. برای تعیین غلظت اسیدهای چرب فرار از دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شد. نمونه‌ها در زمان‌های مشخص برداشت شدند و با افزودن اسید فسفریک ۳ درصد (نسبت ۱:۹) اسیدی شدند. سپس نمونه‌ها سانتریفیوژ و از فیلتر ۰/۲۲ میکرومتر عبور داده شدند. غلظت و ترکیب اسیدهای چرب فرار با کروماتوگرافی گازی با ستون موئین قطبی و آشکارساز یونی‌ازاسیون شعله‌ای تعیین شد. گاز حامل نیتروژن و دماهای تزریق‌کننده و آشکارساز به ترتیب ۱۹۰ و ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. برنامه دمایی ستون شامل نگه داشتن در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه، افزایش ۱۰ درجه سانتی‌گراد به

مواد آلی را تسهیل کرده و بدین ترتیب، بدون نیاز به مواد شیمیایی یا افزایش دما، کیفیت و سرعت آب‌گیری لجن بهبود می‌یابد. بهره‌گیری از الکتروودهای متخلخل و رسانا نیز می‌تواند شدت تخریب ساختار لجن و آزادسازی آب را تقویت کند [۱۸]. با این حال، شکاف پژوهشی در زمینه بهینه‌سازی هم‌زمان تولید انرژی و بهبود ویژگی‌های فیزیکی لجن در یک سامانه واحد، ضرورت انجام این مطالعه را دوچندان می‌کند. هدف از این پژوهش، بررسی کارآمدی سامانه هیبریدی فرایند تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی تک مرحله‌ای به منظور دستیابی هم‌زمان به دو کارکرد کلیدی؛ نخست، افزایش بازده تولید بیوهیدروژن از لجن فاضلاب شهری از طریق بهبود تجزیه‌پذیری زیستی و رفع محدودیت‌های فرایند تخمیر تاریکی و دوم، ارتقای عملکردی فرایند آب‌گیری لجن از طریق بهره‌گیری از مکانیسم‌های تخریبی بیوالکتروشیمیایی است.

## مواد و روش‌ها

### مشخصات نمونه‌های لجن مورد بررسی

برای تولید بیوهیدروژن در سامانه‌های تخمیر تاریکی و ترکیب فرایند تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی، از نمونه‌های لجن فاضلاب شهری شامل لجن اولیه و لجن مازاد بیولوژیکی برداشت شده از تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب تهران (واحدهای ۱ تا ۴) به عنوان بستر استفاده شد. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نمونه‌های لجن یاد شده در جدول شماره ۱ ارائه شده‌اند.

جدول ۱- مشخصات فیزیکوشیمیایی نمونه‌های لجن مورد بررسی  
Table 1- Physicochemical properties of the sludge samples

پارامتر	واحد	میزان	
		لجن اولیه	لجن مازاد بیولوژیکی
مقدار pH	-	۷/۶	۷/۱
غلظت جامدات فرار (VS)	g/L	۱۴/۹	۳/۵
غلظت جامدات کل (TS)	g/L	۲۰/۴	۵/۱
VS/TS	%	۷۳	۶۸

تلقیح مورد استفاده از لجن هضم شده بی‌هوازی خط تصفیه لجن این تصفیه‌خانه تامین شد. برای حذف میکروارگانیزم‌های مصرف‌کننده هیدروژن، لجن تلقیح پیش تیمار حرارتی شده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید [۱۹]. برای آماده‌سازی آزمایش، ۱۰ لیتر لجن‌های اولیه و مازاد بیولوژیکی به طور جداگانه از

برای محاسبه قابلیت فیلتراسیون لجن، مقاومت ویژه فیلتراسیون نیاز است محاسباتی صورت گیرد. با توجه به قانون دارسی، حجم مایع فیلتر شده عبوری از یک صافی متخلخل از رابطه زیر به دست می‌آید [۲۳]:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{PA^2}{\mu(rcV + R_M A)} \quad (2)$$

در رابطه فوق (۲)، P افت فشار، A مساحت صافی،  $\mu$  لزجت متوسط، r مقاومت ویژه فیلتراسیون، c غلظت ذرات جامد لجن و  $R_M$  مقاومت صافی (مقاومت اولیه صافی در مقابل فرایند فیلتراسیون) می‌باشند. رابطه فوق ممکن است تحت شرایطی تبدیل به یک معادله خطی به ترتیب زیر (رابطه ۳) گردد. بنابراین، مقادیر SRF و  $R_M$  می‌تواند از شیب و عرض از مبدا فرمولی به دست آید که نسبت  $t/V$  به عنوان تابعی از حجم فیلتر شده (V) در آن در نظر گرفته می‌شود:

$$\frac{t}{V} = \frac{\mu rc}{2PA^2} V + \frac{\mu R_M}{PA} \quad (3)$$

در نتیجه، بر مبنای نکات یاد شده و تعریف یک معادله خطی،  $\phi$  به عنوان شیب خط و  $\lambda$  به عنوان عرض از مبدا، روابط ۴ و ۵ به دست می‌آیند:

$$SRF = \phi \frac{2PA^2}{\mu c} \quad (4)$$

$$R_M = \lambda \frac{PA}{\mu} \quad (5)$$

### استخراج و آنالیز مواد پلیمری برون سلولی

به منظور استخراج اجزای پلیمری برون سلولی، ابتدا سوسپانسیون لجن در لوله‌های ۵۰ میلی‌لیتری با سرعت ۶۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و آب‌گیری گردید. فاز مایع رویی به عنوان بخش محلول مواد پلیمری برون سلولی جمع‌آوری شد. رسوب حاصل نیز برای جداسازی لایه‌های دیگر مورد استفاده قرار گرفت. پس از تهیه محلول سدیم کلراید با غلظت ۰/۰۵ درصد وزنی- حجمی، فرایند حرارت‌دهی در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد انجام پذیرفت. سپس لجن باقی‌مانده در ۵۰ میلی‌لیتر از همین محلول معلق گردید و نمونه‌ها در حالت افقی با سرعت ۱۵۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه تکان داده شدند.

در ادامه، سوسپانسیون حاصل دوباره در با سرعت ۶۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و مایع رویی به عنوان بخش پیوندی سست مواد پلیمری برون سلولی برداشت گردید. در مرحله بعد، رسوب لجن دوباره در محلول سدیم کلراید ۰/۰۵ درصد دوباره در حالت معلق در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد.

سپس نمونه‌ها با سرعت ۶۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند تا بخش پیوندی محکم مواد پلیمری برون سلولی جدا شده و جمع‌آوری گردد. در پایان هر مرحله، مایع رویی جمع‌آوری شده و پیش از انجام تحلیل‌های بعدی از صافی با قطر منافذ ۰/۴۵ میکرومتر عبور داده شد. محتوای کربوهیدرات محلول نیز با استفاده از روش فنل-

ازای دقیقه تا ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد و ثابت نگه داشتن به مدت ۲ دقیقه بود. حجم تزریق ۱ میکرولیتر بود. سایر پارامترها از جمله جامدات کل و جامدات فرار مطابق کتاب استاندارد متد [۲۲] اندازه‌گیری شدند. تمامی اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار مستقل انجام شد.



سامانه هیبریدی تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی

شکل ۱- شماتیک سامانه هیبریدی تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی  
Figure 1- Schematic of the hybrid dark fermentation and microbial electrolysis cell system

### بازده تولید بیوهیدروژن

حجم روزانه و تجمعی بیوهیدروژن با استفاده از روش جابه‌جایی آب تعیین شد. سپس بازده روزانه و تجمعی میلی لیتر هیدروژن بر گرم جامدات فرار با تقسیم حجم بیوهیدروژن بر مقدار جامدات فرار اولیه محاسبه گردید. اصلاح حجم بر اساس قوانین بویل و گای-لوساک به شرح زیر انجام شد:

$$V_{STP} = V_{meas} \times \frac{T_{STP}}{T_{meas}} \times \frac{P_{meas}}{P_{STP}} \quad (1)$$

$V_{STP}$ : حجم گاز تصحیح شده به شرایط استاندارد دما و فشار

$V_{meas}$ : حجم گاز اندازه‌گیری شده با روش جابه‌جایی آب

$P_{meas}$ : فشار سیستم در زمان اندازه‌گیری حجم گاز

$T_{meas}$ : دمای محفظه جمع‌آوری گاز در زمان اندازه‌گیری

$T_{STP}$ : دمای شرایط استاندارد

### قابلیت فیلتراسیون

پارامترهای مدت زمان مکش موئینه‌ای و مقاومت ویژه فیلتراسیون برای محاسبه قابلیت فیلترپذیری لجن مورد ارزیابی قرار گرفتند. مدت زمان مکش موئینه‌ای، قابلیت فیلتراسیون را مستقیماً بر حسب زمانی که نیاز است تا حجم معینی از لجن فیلتر شود، مشخص می‌کند. تعیین مدت زمان مکش موئینه‌ای بر اساس راهنمای استاندارد متد انجام پذیرفت [۲۲].

یافت که بیانگر فعال شدن مسیرهای فرعی متابولیسی تحت شرایط تکاملی کمتر اسیدی بود. مقدار pH یکی از بنیادی‌ترین متغیرهای عملیاتی در فرایند تخمیر تاریکی است و نقش تعیین‌کننده‌ای در کنترل مسیرهای متابولیسی و کارایی تولید بیوهیدروژن دارد. در شرایط زیستی این فرایند، تنظیم pH در بازه اسیدی، نه تنها موجب مهار جمعیت باکتری‌های متان ساز شده و نقش بازدارندگی در مصرف هیدروژن دارد، بلکه فعالیت آنزیم‌های کلیدی مانند هیدروژناز را در مسیرهای تولیدکننده بیوهیدروژن تقویت می‌کند.

### تأثیر میزان مختلف pH بر میزان تولید هیدروژن در فرایند تخمیر تاریکی

در فرایند تخمیر تاریکی لجن اولیه و لجن مازاد بیولوژیکی، میزان pH به عنوان یکی از عوامل کلیدی نقش تعیین‌کننده‌ای در عملکرد میکروارگانیسم‌ها و تولید هیدروژن دارد.

بررسی‌ها نشان می‌دهد که در محدوده pH بین ۵ تا ۷، مسیرهای متابولیسی باکتری‌ها تحت تأثیر قرار گرفته و تعادل بین تولید هیدروژن و اسیدهای چرب فرار مانند استات، پروپیونات و بوتیرات تغییر می‌کند. بیشترین تولید هیدروژن در مقدار pH برابر ۶ برای لجن اولیه و لجن مازاد بیولوژیکی به ترتیب برابر ۲۰/۹۱ و ۱۰/۸۸ میلی‌لیتر بر گرم جامدات فرار تعیین شد، که نشان‌دهنده شرایط بهینه برای فعالیت آنزیمی و پایداری جمعیت میکروبی است.

در مقدار pH برابر ۷، تولید هیدروژن به ۷/۸۹ میلی‌لیتر بر گرم جامدات فرار در لجن مازاد بیولوژیکی و ۱۴/۷۶ میلی‌لیتر بر گرم جامدات فرار در لجن اولیه کاهش یافت، زیرا برخی باکتری‌ها مسیر متابولیسی خود را به تولید اسیدهای چرب فرار ترجیح دادند، به ویژه استات و پروپیونات که غالب مسیر جانبی بودند. در محدوده pH اسیدی‌تر برابر ۵، تولید هیدروژن به ترتیب به ۱۸/۴۵ و ۹/۵۲ میلی‌لیتر بر گرم جامدات فرار در لجن اولیه و لجن مازاد بیولوژیکی رسید، که ممکن است ناشی از مهار جزئی باکتری‌های حساس به اسید و افزایش نسبی بوتیرات و پروپیونات باشد. نتایج ارائه شده در شکل‌های ۴ و ۵ روند تولید هیدروژن در مدت ۷ روز تخمیر نشان می‌دهند که افزایش سریع اولیه در روزهای ۱ تا ۳ رخ داد و سپس در روزهای ۴ تا ۵ نرخ تولید کاهش یافت و تا روز ۷ به یک سطح پایدار نزدیک شد. این روند به‌وضوح نشان می‌دهد که مقدار pH بهینه برابر ۶ نه تنها بیشترین میزان تولید هیدروژن را میسر می‌سازد، بلکه شیب افزایش در روزهای ابتدایی نیز بیشتر بوده است. بر هم‌کنش میکروارگانیسم‌ها با اسیدهای تولید شده نیز نقش مهمی در بازده نهایی داشت. برخی گونه‌های هیدروژن‌زا قادرند اسیدهای چرب فرار مانند استات و بوتیرات را مصرف کرده و آنها را به هیدروژن و دی‌اکسیدکربن تبدیل کنند، در حالی که مسیرهای دیگر به تولید پروپیونات یا اسیدهای غیرفرار تمایل پیدا می‌کنند. علاوه بر این، پیش‌تصفیه حرارتی لجن اولیه و لجن مازاد باعث تخریب دیواره سلولی

اسید سولفوریک و غلظت پروتئین محلول با روش بردفورد تعیین گردید [۲۴]. کل کربن آلی با TOC آنالایزر مورد سنجش قرار گرفت.

### یافته‌ها

#### تأثیر مقادیر مختلف pH بر میزان تولید اسیدهای چرب فرار در فرایند تخمیر تاریکی

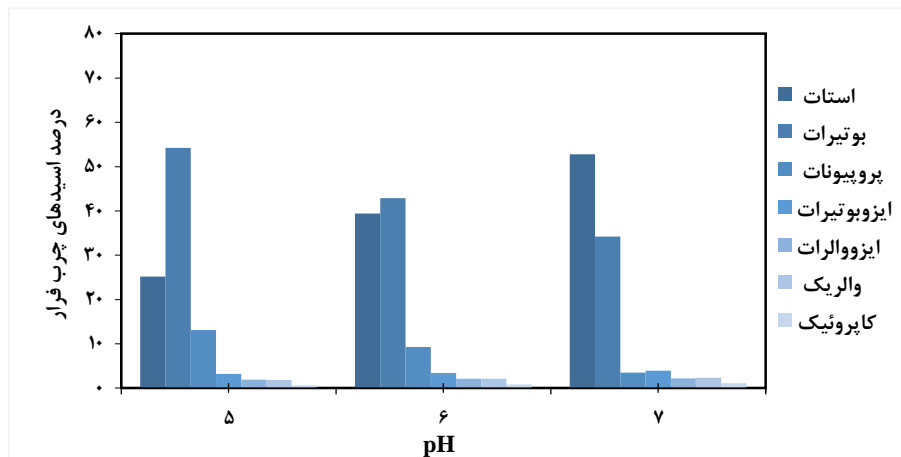
در این پژوهش، تغییرات میزان اسیدهای چرب فرار شامل استیک اسید، پروپیونیک اسید، بوتیریک اسید، ایزوبوتیریک اسید، ایزووالریک اسید، والریک اسید و کاپروئیک اسید در بستر لجن اولیه و لجن مازاد بیولوژیکی تحت شرایط مقادیر pH برابر ۵، ۶ و ۷ مورد بررسی قرار گرفت.

با توجه به شکل‌های ۲ و ۳ در مقدار pH برابر ۵، تولید اسیدهای چرب فرار در هر دو بستر تحت تأثیر اسیدیته بالا قرار گرفت و عمدتاً مسیرهای بوتیروئیک فعال بودند. در لجن اولیه، بوتیرات با مقدار ۵۴/۲ درصد بیشترین سهم را داشت و پس از آن استات با ۲۵/۲ درصد و سپس پروپیونات قرار گرفت. ایزوبوتیرات، ایزووالرات، والرات و کاپروئیک اسید مجموعاً ۱۰ درصد از میزان کل را تشکیل دادند. در لجن مازاد بیولوژیکی نیز بوتیرات، اسید غالب بود و مقدار آن به ۴۷/۸ درصد رسید و سایر اسیدها الگوی مشابهی با تمرکز بیشتر بر بوتیرات و استات داشتند. تولید اسیدهای شاخه‌دار (ایزوبوتیرات و ایزووالرات) در این مقدار pH پایین‌تر بود و مقادیر محدودی نشان داد. در مقدار pH برابر ۶ ترکیب اسیدهای چرب فرار متعادل‌تر شد و سهم استات و بوتیرات نسبت به مقدار pH اسیدی متفاوت شد. در لجن اولیه، گرچه بوتیرات هنوز سهم قابل توجهی داشت (برابر ۴۲/۹ درصد)؛ اما استات افزایش نشان داد و به ۳۹/۴ درصد رسید. در لجن مازاد بیولوژیکی، استات با مقدار ۴۳/۲ درصد به اسید غالب تبدیل شد و بوتیرات و پروپیونات به ترتیب مقادیر ۳۶/۳ و ۱۳/۹ درصد را تشکیل دادند. اسیدهای شاخه‌دار (ایزوبوتیرات و ایزووالرات) افزایش نسبی یافتند. در مقدار pH برابر ۷، استات در هر دو بستر به اسید غالب تبدیل شد. در لجن اولیه، استات با مقدار ۵۲/۸ درصد بیشترین سهم را به خود اختصاص داد و میزان بوتیرات ۳۴/۲ درصد تعیین گردید. تولید اسیدهای شاخه‌دار نیز افزایش محدود؛ اما قابل توجهی یافت. والرات و کاپروئیک اسید نشان‌دهنده تمایل بیشتر به شرایط میزان pH خنثی بودند. الگوی مشابهی در لجن مازاد بیولوژیکی مشاهده شد، به طوری که استات در صدر میزان تولید قرار گرفت و سایر اسیدها سهم‌هایی متناسب با ترکیب بستر نشان دادند.

به طور کلی، نتایج این بررسی نشان دادند که بوتیرات، اسید غالب در گستره pH اسیدی، ترکیبی از استات و بوتیرات، اسیدهای غالب در مقدار pH برابر ۶ و استات، اسید غالب در مقدار pH برابر ۷ بودند. علاوه بر این، تولید اسیدهای شاخه‌دار (ایزوبوتیرات و ایزووالرات) و اسیدهای زنجیره بلندتر (والرات و کاپروئیک اسید) در مقادیر pH بالاتر افزایش

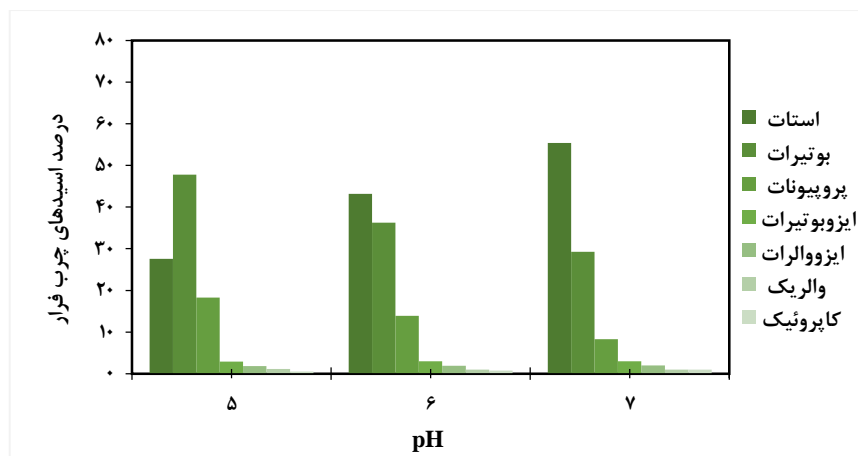
تولید هیدروژن و اسیدهای چرب فرار را نیز میسر نمود. این تحلیل نشان داد که کنترل دقیق پارامتر pH، شناخت مسیرهای غالب اسیدی و برهم کنش میکروبی با آنها، کلید افزایش کارآمدی فرآیند تخمیر تاریکی است.

و افزایش دسترسی به ترکیبات قابل تخمیر شده است، که تاثیر پارامتر pH بر مسیرهای متابولیکی و بازده تولید هیدروژن را تشدید می کند. برقراری همزمان شرایط مقدار pH بهینه و پیش تصفیه حرارتی نه تنها امکان تولید بیشترین هیدروژن را فراهم آورد، بلکه تعادل بین مسیرهای



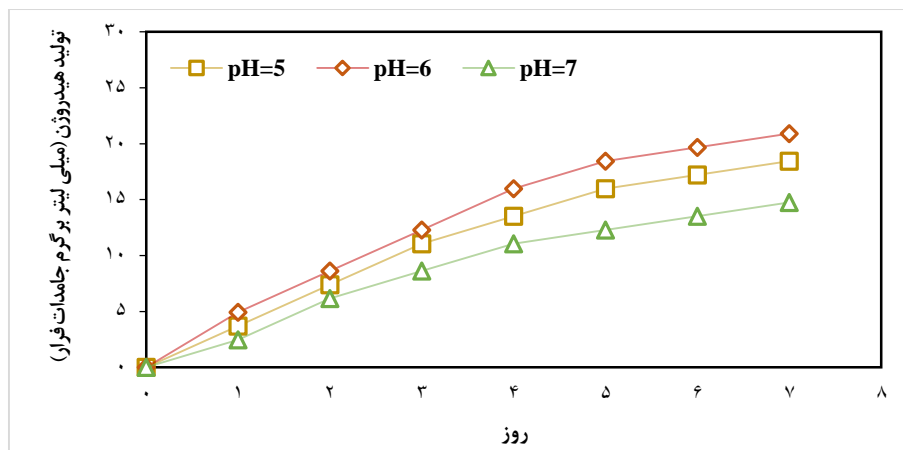
شکل ۲- نوع و درصد اسیدهای چرب فرار در بستر لجن اولیه در مقادیر مختلف pH در فرایند تخمیر تاریکی

Figure 2- Type and percentage of volatile fatty acids in primary sludge substrate at different pH values during the dark fermentation process



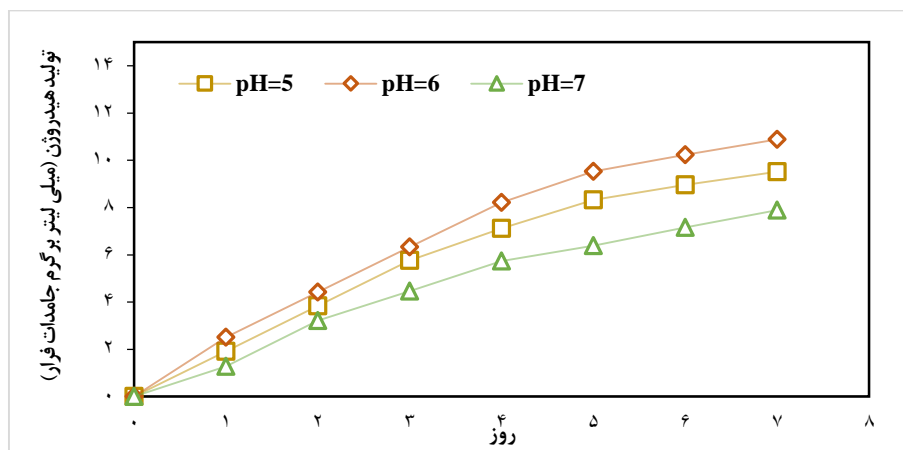
شکل ۳- نوع و درصد اسیدهای چرب فرار در بستر لجن مازاد بیولوژیکی در مقادیر مختلف pH در فرایند تخمیر تاریکی

Figure 3- Type and percentage of volatile fatty acids in waste activated sludge substrate at different pH values during the dark fermentation process



شکل ۴- اثر مقادیر مختلف pH بر تولید هیدروژن از لجن اولیه در فرایند تخمیر تاریکی

Figure 4- Effect of different pH levels on hydrogen production from primary sludge during dark fermentation



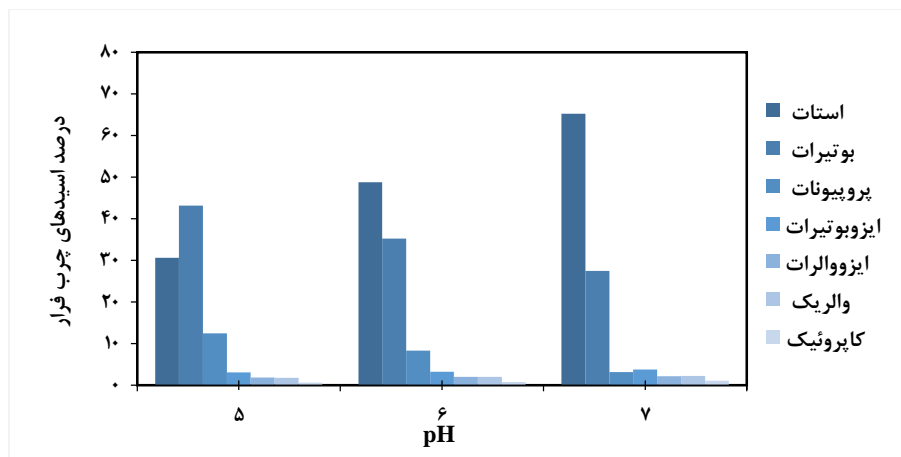
شکل ۵- اثر مقادیر مختلف pH بر تولید هیدروژن از لجن مازاد بیولوژیکی در فرایند تخمیر تاریکی

Figure 5- Effect of different pH levels on hydrogen production from waste activated sludge during dark fermentation

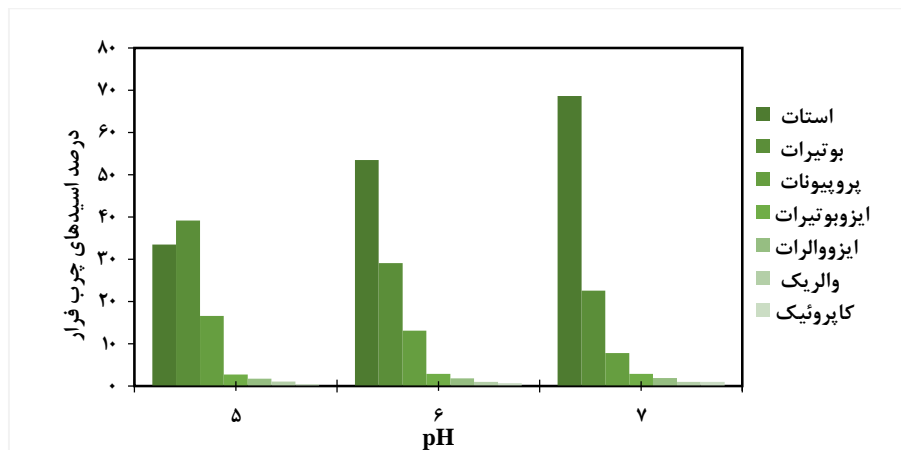
نشان داد. با افزایش pH به ۶، مسیر متابولیسی به سمت تولید استات تقویت شد، به گونه‌ای که سهم استات در لجن اولیه به ۴۸/۷ درصد و در لجن مازاد بیولوژیکی به ۵۳/۵ درصد افزایش یافت، در حالی که بوتیرات به ترتیب به ۳۵/۲ درصد و ۲۹/۱ درصد کاهش یافت و پروپیونات نیز در محدوده ۸/۳-۱۳/۱ درصد قرار گرفت. در pH برابر ۷، این روند تشدید شده و استات به‌عنوان محصول غالب تخمیر تثبیت شد، به طوری که سهم آن در لجن اولیه به ۶۵/۲ درصد و در لجن مازاد بیولوژیکی به ۶۸/۷ درصد رسید، در حالی که بوتیرات به ۲۷/۴ درصد و ۲۲/۶ درصد کاهش یافت و پروپیونات نیز به مقادیر پایین‌تر محدود شد. این موضوع نشان می‌دهد که مقدار pH برابر ۶ شرایط زیستی و الکتروشیمیایی مطلوب‌تری را فراهم کرده و فرایند ادغام شده تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی به بالاترین میزان هیدروژن و اسیدهای چرب فرار منجر شده است.

### تأثیر مقادیر مختلف pH بر میزان تولید اسیدهای چرب فرار در سامانه ترکیبی

تأثیر مقادیر pH اولیه ۵، ۶ و ۷ بر تولید اسیدهای چرب فرار در روش ترکیبی فرایند تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی در شکل‌های ۶ و ۷ نشان داده شده است. نتایج بیانگر آن است که در مقدار اولیه pH برابر ۶ بیشترین غلظت اسیدهای چرب فرار در مقایسه با مقادیر pH ۵ و ۷ حاصل گردید. بر اساس شکل ۶ و ۷، الگوی تغییرات اسیدهای چرب فرار در سامانه ترکیبی فرایند تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی به‌طور معناداری تحت تأثیر pH قرار داشت. در pH برابر ۵، در لجن اولیه، بوتیرات با ۴۳/۱ درصد و استات با ۳۰/۶ درصد بیشترین سهم را دارند و در بستر لجن مازاد بیولوژیکی، سهم استات نسبت به اولیه افزایش یافته و به ۳۳/۵ درصد بود، در حالی که بوتیرات به ۳۹/۲ درصد کاهش یافت و هم‌زمان پروپیونات از ۱۲/۴ درصد به ۱۶/۶ درصد افزایش



شکل ۶- نوع و درصد اسیدهای چرب فرار در بستر لجن اولیه در مقادير مختلف pH در سامانه ترکیبی فرایند تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی  
Figure 6- Type and percentage of volatile fatty acids in primary sludge substrate at different pH values in the integrated dark fermentation–microbial electrolysis cell system



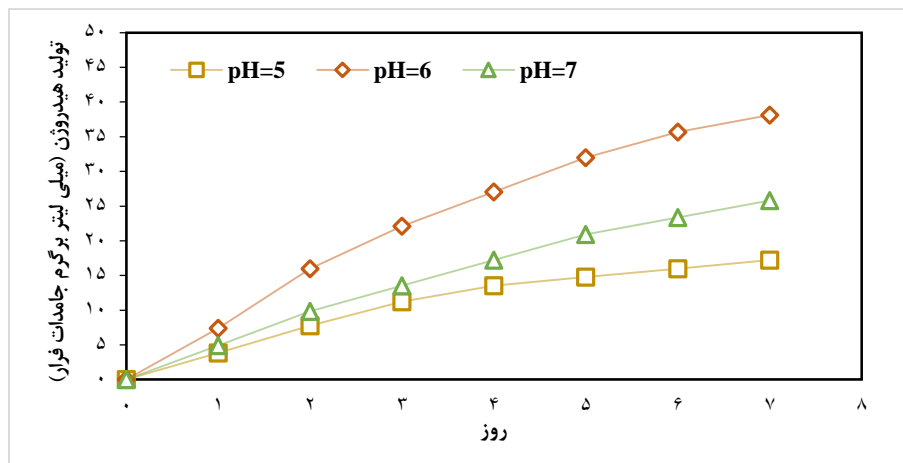
شکل ۷- نوع و درصد اسیدهای چرب فرار در بستر لجن مازاد بیولوژیکی در مقادير مختلف pH در سامانه ترکیبی فرایند تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی  
Figure 7- Type and percentage of volatile fatty acids in waste activated sludge substrate at different pH values in the integrated dark fermentation–microbial electrolysis cell system

به طور میانگین به ۱/۱ تا ۲/۳ برابر بالاتر از انجام فرایند تخمیر تاریکی به‌تنهایی در هر دو بستر افزایش داد. با توجه به شکل‌های ۸ و ۹ بیشترین تولید هیدروژن در مقدار pH برابر ۶ برای لجن اولیه و لجن مازاد بیولوژیکی به ترتیب برابر ۳۸/۱۳ و ۱۹/۶۶ میلی‌لیتر بر گرم جامدات فرار تعیین گردید که نشان‌دهنده برقراری شرایط بهینه برای فعالیت آنزیمی و پایداری جمعیت میکروبی است. در pH برابر ۷، تولید هیدروژن به ۱۲/۸۷ میلی‌لیتر بر گرم جامدات فرار در لجن مازاد بیولوژیکی و ۲۵/۸۳ میلی‌لیتر بر گرم جامدات فرار در لجن اولیه کاهش یافت، زیرا برخی باکتری‌ها مسیر متابولیکی خود را به تولید اسیدهای چرب فرار ترجیح دادند، به ویژه استات و پروپیونات که غالب مسیر جانبی بودند. در pH اسیدی‌تر (۵)، تولید هیدروژن به ترتیب ۱۷/۲۲ و ۸/۶۵ میلی‌لیتر بر گرم جامدات فرار در لجن اولیه و لجن مازاد بیولوژیکی رسید.

#### تأثیر مقادير مختلف pH بر میزان تولید هیدروژن در سامانه ترکیبی

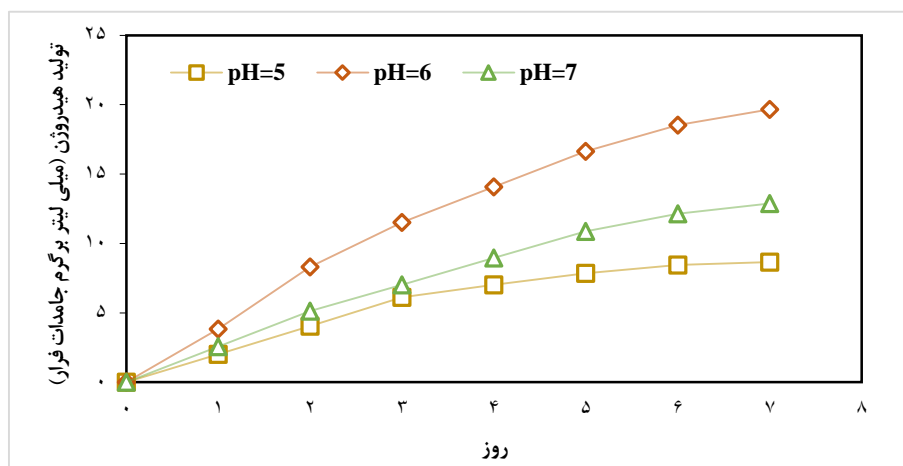
در این پژوهش، تأثیر مقادير pH اولیه برابر ۵، ۶ و ۷ بر شکل‌گیری اسیدهای چرب فرار و تولید هیدروژن در فرایند یکپارچه تخمیر تاریکی همراه با سلول الکترولیز میکروبی مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها نشان داد که بیشترین نرخ روزانه تولید هیدروژن در تمامی شرایط pH طی روزهای دوم و سوم مشاهده شد.

بررسی روند عملکردی سامانه نیز بیانگر آن بود که مقدار نهایی هیدروژن تولید شده در پایان فرایند، بسته به مقدار pH اولیه، اختلاف قابل توجهی داشت، به‌طوری‌که شرایط pH برابر ۶ بیشترین بازده را در مقایسه با مقادير pH ۵ و ۷ ایجاد کرد و افزایش میزان pH از ۵ به ۶ موجب جهش محسوسی در میزان هیدروژن گردید. علاوه بر این، تلفیق فرایند تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی بازده تولید هیدروژن را



شکل ۸- اثر میزان مختلف pH مختلف بر تولید هیدروژن از لجن اولیه در سامانه ترکیبی فرایند تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی

Figure 8- Effect of different pH levels on hydrogen production from primary sludge in the integrated dark fermentation-microbial electrolysis cell process

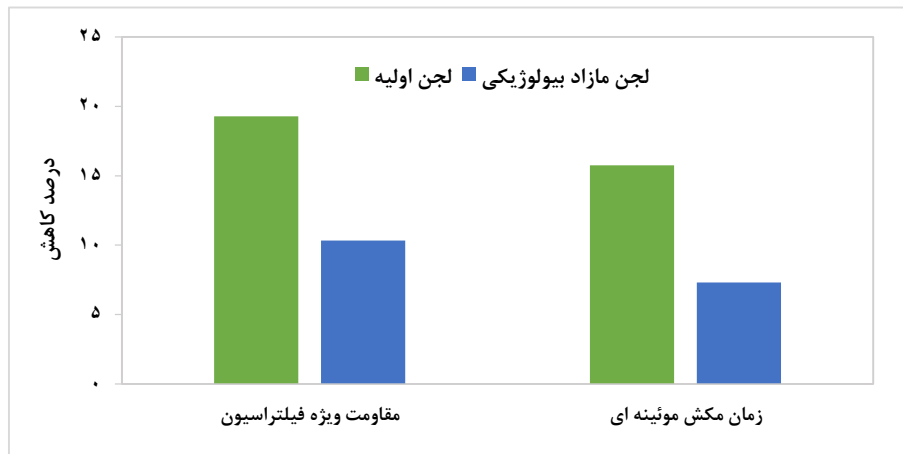


شکل ۹- اثر میزان pH بر تولید هیدروژن از لجن مازاد بیولوژیکی در سامانه ترکیبی فرایند تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی

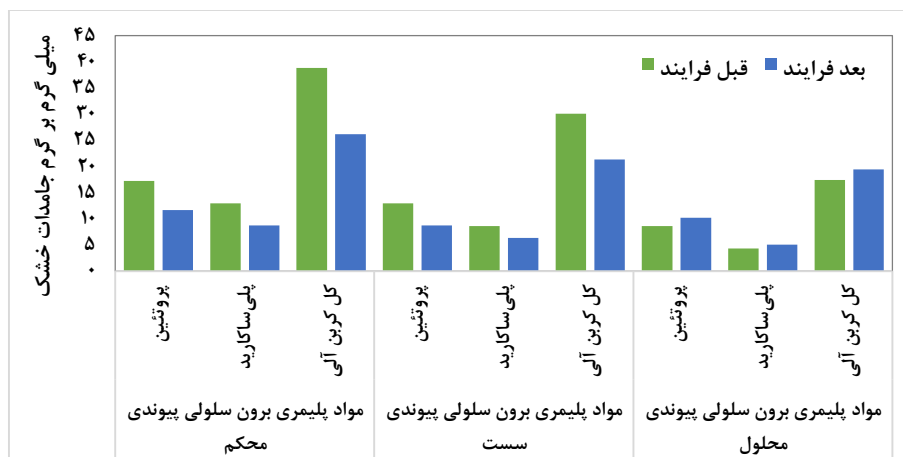
Figure 9. Effect of different pH levels on hydrogen production from waste activated sludge in the integrated dark fermentation-microbial electrolysis cell process

قابلیت جداسازی فاز مایع می‌شود. با توجه به شکل ۱۰، لجن اولیه با کاهش مدت زمان مکش موئینه‌ای برابر با ۱۵/۷۵ و کاهش مقاومت ویژه فیلتراسیون برابر با ۱۹/۲۸ درصد نشان داد که تغییرات ایجاد شده در ساختار مواد پلیمری برون سلولی موجب ارتقای قابل توجه فرآیند آب‌گیری شده است. برای لجن مازاد بیولوژیکی نیز کاهش مدت زمان مکش موئینه‌ای برابر با ۷/۳۱ درصد و کاهش مقاومت ویژه فیلتراسیون برابر با ۱۰/۳۴ درصد مشخص گردید.

**تأثیر به کارگیری سامانه ترکیبی بر شاخص‌های آب‌گیری لجن**  
کاهش مدت زمان مکش موئینه‌ای و مقاومت ویژه فیلتراسیون نشان‌دهنده بهبود ویژگی‌های آب‌گیری لجن است و ارتباط مستقیمی با میزان و ماهیت مواد پلیمری برون سلولی دارد. کاهش این دو شاخص معمولاً بیانگر عدم انسجام فلوک‌ها، کاهش پذیری ماتریس پلیمری و آزادسازی بخش‌هایی از مواد پلیمری برون سلولی است که سبب افزایش



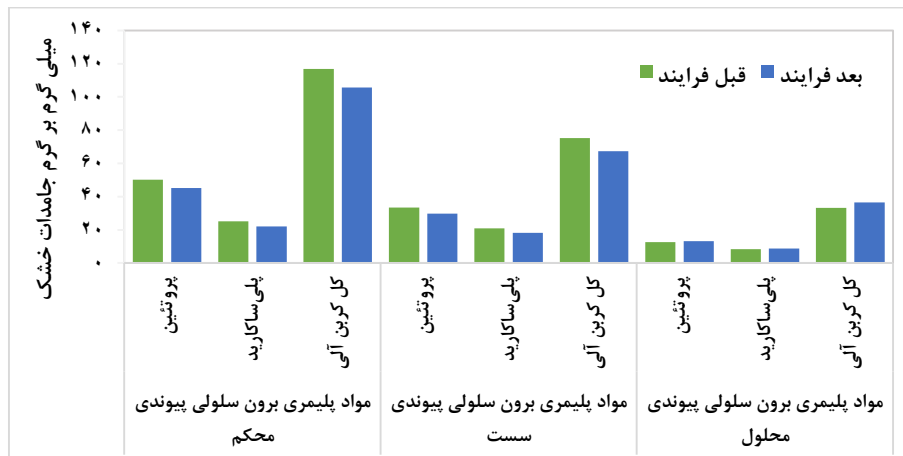
شکل ۱۰- تاثیر به کارگیری سامانه ترکیبی فرایند تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی بر مقاومت ویژه فیلتراسیون و مدت زمان مکش موئینه‌ای  
Figure 10- Effect of applying the integrated dark fermentation-microbial electrolysis cell process on specific filtration resistance and capillary suction time



شکل ۱۱- تاثیر به کارگیری سامانه ترکیبی فرایند تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی بر توزیع اجزای مواد پلیمری برون سلولی در لجن اولیه  
Figure 11- Effect of applying the integrated dark fermentation-microbial electrolysis cell process on the distribution of extracellular polymeric substance components in primary sludge

با توجه به داده‌های شکل ۱۲ برای لجن مازاد بیولوژیکی، در بخش مواد پلیمری برون سلولی با پیوند محکم در لجن اولیه، پروتئین ۹/۹ و پلی ساکارید ۱۱/۸ درصد و کل کربن آلی از ۱۱۶/۹۲ به ۱۰۵/۶۲ میلی گرم بر گرم جامدات خشک کاهش یافت. در بخش پیوندی سست، پروتئین ۱۰/۹ درصد، پلی ساکارید ۱۲/۶ درصد و کل کربن آلی از ۷۵/۱۶ درصد به ۶۷/۲۷ درصد میلی گرم بر گرم جامدات خشک کاهش یافت. در مقابل، مواد پلیمری محلول افزایش نشان دادند؛ پروتئین افزایش ۵ درصد و پلی ساکارید افزایش ۴/۶ درصد یافت که باعث افزایش کل کربن آلی از ۳۳/۲۸ به ۳۶/۵۶ میلی گرم بر گرم جامدات خشک شد. این تغییرات نشان می‌دهد که کاهش مواد پلیمری برون سلولی پیوندی محکم و سست موجب بهبود فیلتراسیون و کاهش مقاومت ویژه شده است.

کاهش مدت زمان مکش موئینه‌ای و مقاومت ویژه فیلتراسیون در لجن اولیه با تغییرات مواد پلیمری برون سلولی مرتبط است. همانگونه که در شکل ۱۱ قابل مشاهده است، در بخش مواد پلیمری برون سلولی با پیوند محکم در لجن اولیه، پروتئین ۳۲/۶ درصد و پلی ساکارید ۳۲/۵ درصد و کل کربن آلی از ۳۸/۸۴ به ۲۶/۱۹ میلی گرم بر گرم جامدات خشک کاهش یافت. در بخش پیوند سست، پروتئین ۳۲/۷ درصد، پلی ساکارید ۲۶/۵ درصد و کل کربن آلی از ۳۰/۰۷ به ۲۱/۳۴ میلی گرم بر گرم جامدات خشک کاهش یافت. در مقابل، مواد پلیمری محلول افزایش نشان دادند. پروتئین افزایش ۱۷/۹ درصد و پلی ساکارید افزایش ۱۶/۹ درصد یافت که باعث افزایش کل کربن آلی از ۱۷/۳۹ به ۱۹/۴۴ میلی گرم بر گرم جامدات خشک شد.



شکل ۱۲- تاثیر به کارگیری سامانه ترکیبی فرایند تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی بر توزیع اجزای مواد پلیمری برون سلولی در لجن مازاد بیولوژیکی  
Figure 12- Effect of applying the integrated dark fermentation-microbial electrolysis cell process on the distribution of extracellular polymeric substance components in waste activated sludge

## بحث

از این مقدار موجب افت عملکرد سامانه می‌شود [۲۸]. در مقابل، مطالعه نشان داد که در فاضلاب دامپروری، مقدار pH برابر ۶ بهترین تولید هیدروژن را می‌سازد، در حالی که pH ۵ موجب مهار فعالیت باکتری‌های هیدروژن‌زا می‌شود و مقادیر pH قبلیایی نیز کارایی مصرف کربوهیدرات را کاهش می‌دهند [۲۹]. همچنین در سامانه‌های مبتنی بر لاکتات، بازه pH بهینه گسترده‌تر بوده و حتی تولید هیدروژن در مقادیر pH قبلیایی مانند ۸/۵ نیز گزارش شده است [۳۰]. اهمیت تاثیر مقدار pH بر توزیع اسیدهای چرب فرار مشهود است، زیرا تغییر در غلظت استات، پروپیونات و بوتیرات مستقیماً بر مسیرهای تولید هیدروژن اثر می‌گذارد. برای مثال، در تخمیر تاریکی مبتنی بر لاکتات، افزایش بوتیرات با افزایش تولید هیدروژن همبستگی مثبت داشته و فراوانی میکروارگانیزم کلاستریدیوم در دوره‌های اوج تولید هیدروژن بیشتر بوده است، در حالی که افزایش استات و لاکتات به همراه کاهش عملکرد مرتبط بوده است [۳۱]. یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد که پارامتر pH علاوه بر تنظیم فعالیت میکروبی، بر تعادل کربن بین محصولات میانی نیز تاثیر گذاشته و مسیرهای متابولیکی را به صورت مستقیم کنترل می‌کند. همچنین در فرایندهای تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه، مقدار pH نزدیک به ۷ بیشترین بازده را ممکن ساخته و نشان می‌دهد که تنظیم دقیق مقدار pH نه تنها برای تولید هیدروژن بلکه برای مدیریت محصولات جانبی و هدایت سامانه به سمت تولیدات هدف ضروری است [۳۲]. همچنین مجموع نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که مقدار pH به عنوان یک پارامتر اصلی موثر، محور اصلی طراحی، کنترل و بهینه‌سازی سامانه‌های تخمیر تاریکی برای تولید بیوهیدروژن به شمار می‌آید. پیش تصفیه حرارتی با افزایش دما موجب

مقدار pH یکی از بنیادی‌ترین متغیرهای عملیاتی در فرایند تخمیر تاریکی است و نقش تعیین‌کننده‌ای در کنترل مسیرهای متابولیکی و کارایی تولید بیوهیدروژن دارد. در شرایط زیستی این فرایند، تنظیم pH در بازه اسیدی، نه تنها موجب مهار جمعیت باکتری‌های متان ساز شده و نقش بازدارندگی در مصرف هیدروژن دارد، بلکه فعالیت آنزیم‌های کلیدی مانند هیدروژناز را در مسیرهای تولیدکننده بیوهیدروژن تقویت می‌کند. پایداری آنزیمی و کارآمدی تبدیل سوبسترا در گستره pH مطلوب، سبب می‌شود که الکترون‌ها به جای انحراف به مسیرهای جانبی مانند تولید الکل یا اسیدلاکتیک، به سمت مسیرهای احیایی موثر برای تولید بیوهیدروژن هدایت شوند [۲۵، ۲۶]. در فرایند تخمیر تاریکی، گستره مقدار pH برابر حدوداً ۵ تا ۶ به طور گسترده به عنوان شرایط بهینه برای اسیدزایی و تولید بیوهیدروژن گزارش شده است. این محدوده فعالیت باکتری‌های تولیدکننده هیدروژن، به ویژه گونه‌های کلاستریدیوم را تسهیل می‌کند و موجب افزایش تجزیه ترکیبات آلی به اسیدهای چرب فرار و بیوهیدروژن می‌شود. نتایج مطالعات نشان داده‌اند که انحراف از این بازه، چه به سمت اسیدی‌تر شدن محیط و چه به سمت قبلیایی‌تر شدن آن، به کاهش محسوس تولید هیدروژن منجر می‌شود؛ زیرا فعالیت میکروبی و آنزیمی مختل شده و الگوی تخمیر به سمت تولید متابولیت‌های غیرهیدروژنی تغییر می‌یابد [۲۶، ۲۷]. با این حال، شواهد پژوهشی نشان می‌دهند که مقدار pH بهینه تابعی از نوع بستر و ترکیب اجتماع میکروبی است. برای نمونه، Tang و همکاران در سال ۲۰۲۲ گزارش کرد که مقدار pH اولیه برابر ۵ شرایط لازم برای بیشترین بازده تولید هیدروژن را فراهم می‌کند و فاصله گرفتن

تسریع مراحل هیدرولیز و تولید اسید می‌شود. این یافته با گزارش‌های دیگر همسو است که نشان داده‌اند افزودن سلول الکترولیز میکروبی به سامانه‌های بی‌هوازی باعث افزایش نرخ تجزیه ترکیبات آلی در مراحل یادشده می‌گردد [۳۶،۳۷].

در سامانه هیبریدی فرایند تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی، انجام هم‌زمان واکنش‌های زیستی و الکتروشیمیایی باعث افزایش قابل توجه تولید هیدروژن می‌شود، زیرا در مرحله بیولوژیکی، ترکیبات آلی به اسیدهای چرب فرار تبدیل می‌شوند و در مرحله الکتروشیمیایی، میکروارگانسیم‌های الکتروفعال این اسیدها را اکسید کرده و پروتون و الکترون تولید می‌کنند که در بخش کاتدی به هیدروژن تبدیل می‌شود. مقدار اولیه اسیدیته بستر نیز نقش تعیین‌کننده‌ای در تنظیم فعالیت میکروارگانسیم‌های اسیدساز و الکتروفعال دارد و با توجه به نتایج بررسی‌های موجود مقدار مناسب برای این سامانه میان مقدار مطلوب تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی قرار می‌گیرد. یافته‌های این تحقیق نشان داد که اسیدیته اولیه برابر با ۶ شرایطی پایدار و کارآمد برای هر دو گروه میکروبی ایجاد کرده و با فعال نگه‌داشتن مسیرهای اسیدزایی و تقویت فرآیند الکتروشیمیایی، بیشترین میزان تولید هیدروژن را میسر می‌سازد. همچنین تنظیم اسیدیته در کنار اثرات الکتریکی این سامانه به مهار فعالیت میکروارگانسیم‌های متان‌ساز و جلوگیری از اتلاف هیدروژن کمک کرده و در راهکارهای نوین نظیر الکتروتخمیر توانسته است بازده مولی هیدروژن را تا حدود ۹۵ درصد مقدار نظری افزایش دهد [۳۸]. پیش تصفیه حرارتی با افزایش تجزیه‌پذیری لجن، موجب بهبود قابل توجه مصرف ترکیبات آلی و افزایش تولید هیدروژن در مرحله الکتروشیمیایی می‌شود. در مطالعه‌ای، در لجن حرارت دیده ۳۶۹ میلی‌گرم بر لیتر کربوهیدرات مصرف گردید که بیش از هفت برابر نمونه بدون پیش‌تیمار است و نشان‌دهنده دسترسی بیشتر الکتروژن‌ها به سوستره قابل تجزیه بود.

این پیش‌تیمار همچنین بازده تولید بیوهیدروژن را افزایش داده و مقدار تولید آن را به ۹۷/۵۷ میلی‌لیتر بر گرم مواد فرار رسانده است. پروفیل زمانی تولید نشان می‌دهد که بالاترین نرخ تولید در ۲۴ ساعت نخست رخ می‌دهد که ناشی از بازشدن ساختار لجن و سهولت اکسیداسیون اسیدهای چرب فرار، به‌ویژه استیک اسید، پس از حرارت‌دهی است. علاوه بر این، مقدار بسیار کم متان تولیدشده برابر ۰/۲۸ میلی‌لیتر بر گرم مواد فرار بیانگر غیرفعال‌سازی مؤثر باکتری‌های متان‌ساز بر اثر حرارت است. در مجموع، پیش‌تیمار حرارتی با افزایش مصرف اکسیژن خواهی شیمیایی محلول (SCOD)، پروتئین و کربوهیدرات و افزایش تولید هیدروژن، کارایی الکتروشیمیایی سامانه را به طور محسوسی تقویت می‌کند [۳۳]. پیش‌تصفیه حرارتی، تغییرات قابل توجهی در ساختار و فراوانی مواد پلیمری برون سلولی ایجاد می‌کند. مواد پلیمری برون سلولی که عمدتاً شامل پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدهاست، در حالت

تخریب ساختار ماتریس لجن و پیوندهای پلی‌ساکاریدی و پروتئینی شده و با گسستن شبکه فشرده مواد آلی، آزادسازی ترکیبات محلول و افزایش میزان مواد آلی محلول را تسهیل می‌کند. این فرایند حلالیت کربوهیدرات‌ها را بالا برده و سوستره‌های قابل دسترس برای باکتری‌های هیدروژن‌زا فراهم می‌آورد. در نتیجه، بازده تولید بیوهیدروژن افزایش یافته و تولید اسیدهای چرب فرار و اسیدهای آلی زنجیره کوتاه به طور قابل توجهی تقویت می‌شود. بدین ترتیب، پیش‌تیمار حرارتی نقش مهمی در تسریع هیدرولیز لجن و ارتقای عملکرد فرایند تخمیر تاریکی ایفا می‌کند [۳۳].

در مطالعه‌ای، پیش‌تصفیه حرارتی بستر مخلوطی از لجن فاضلاب و پسماند صنایع غذایی در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد، باعث افزایش تولید هیدروژن از ۹۶/۴۸ به ۱۴۳/۹۵ میلی‌لیتر بر گرم کربوهیدرات شد، زیرا دما کافی بود تا ساختار لجن شکسته شده و ترکیبات قابل تخمیر آزاد شوند بدون اینکه ترکیبات بازدارنده تولید شوند. اما افزایش دما به ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد منجر به کاهش حدود ۱۰ درصدی تولید هیدروژن شد، که دلیل آن تخریب بیش از حد قندها و سایر ترکیبات ساده موجود در پسماند غذایی و تشکیل ترکیبات بازدارنده برای میکروب‌های هیدروژن‌زا بود. بنابراین، اثر دما بر تولید هیدروژن به شدت به نوع بستر وابسته است [۹]. تصفیه حرارتی کوتاه مدت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و مدت ۸ ساعت بر مخلوط لجن فاضلاب و پسماند غذایی اعمال شد تا بخش محلول و کلئیدی ماده آلی آزاد شود و فرآیند اسیدی شدن و تخمیر تاریک بهبود یابد. این پیش‌تصفیه باعث افزایش تولید هیدروژن تا ۳۴/۴ درصد حجمی و ۰/۰۴۶ متر مکعب هیدروژن به ازای هر کیلوگرم ماده خشک اولیه شد و مدت زمان ماند هیدرولیکی کمتر (۵ روز) نیز بازده تولید را بهینه کرد [۳۴]. مطالعه‌ای دیگر نشان داد، پیش‌تصفیه حرارتی لجن فاضلاب در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه، نقش مهمی در کاهش ۹۸ درصدی میکروارگانسیم‌های غیرضروری و هیدرولیز بخش آلی لجن داشته و آماده‌سازی بستر برای انجام فرایند تخمیر را تسهیل کرد [۳۵].

در مطالعه‌ای نشان داده شد با توجه به اینکه باکتری‌های اسیدساز در شرایط اسیدی (در محدوده pH حدود ۵/۵ تا ۶/۵) بهترین عملکرد را داشتند، همچنین باکتری‌های الکتروفعال در سلول الکترولیز میکروبی معمولاً در مقدار pH حدود ۶/۵ فعالیت بیشینه داشتند، مشاهده pH بهینه ۶ در هر دو سامانه تخمیر تاریکی و روش ترکیبی فرایند تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی قابل انتظار بوده است [۲۱].

نتایج بررسی عملکرد روش ترکیبی فرایند تخمیر تاریکی و سلول الکترولیز میکروبی در مقایسه با تنها فرایند تخمیر تاریکی نشان داد سرعت تولید اسیدهای چرب فرار را افزایش داده است. با توجه به اینکه تولید اسیدهای چرب فرار عمدتاً در مرحله تولید اسید رخ می‌دهد، نتایج به‌روشنی بیان می‌کنند که وجود بخش سلول الکترولیز میکروبی موجب

در نتیجه، تاثیر منفی بر کارآمدی آب‌گیری لجن داشته باشد. پس از حذف مواد پلیمری برون سلولی پیوندی محکم، کارآمدی آب‌گیری لجن بهبود می‌یابد [۴۴].

### نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان می‌دهند که ترکیب فرایند تخمیر تاریکی و سلول‌های الکترولیز میکروبی به عنوان یک سامانه یکپارچه (هیبریدی) از قابلیت عملکردی لازم برای بهبود هم‌زمان بازده تولید بیوهیدروژن و کارایی آب‌گیری لجن فاضلاب شهری برخوردار است. همان طور که در مطالعات پیشین گزارش شده است، محدودیت‌های تخمیر تاریکی شامل بازده پایین تولید هیدروژن و تجمع اسیدهای چرب فرار، عمدتاً به علت حضور و فعالیت باکتری‌های متان ساز و امکان دسترسی محدود به مواد آلی پیچیده موجود در لجن است.

همچنین این نتایج نشان دادند که به کارگیری مرحله پیش حرارت دهی به همراه روش ترکیبی فرایند تخمیر تاریکی و سلول‌های الکترولیز میکروبی باعث گسست ساختار لخته‌های لجن (فلوک‌ها) و آزادسازی محتوای درون سلولی می‌گردد که در نتیجه آن، افزایش دسترسی زیستی به مواد آلی موجود و کاهش شرایط رقابتی برای میکروارگانیزم‌ها و در نهایت، تاثیر مثبت بر تولید هیدروژن شد. از منظر تولید بهینه هیدروژن، به کارگیری سامانه ترکیبی (هیبریدی) متشکل از سلول الکترولیز میکروبی و تخمیر تاریکی امکان رفع محدودیت‌های ترمودینامیکی تبدیل متابولیت‌هایی مانند استات را فراهم می‌سازد و بازده نظری تولید هیدروژن را افزایش می‌دهد.

نتایج تجربی حاصل در این پژوهش نشان داد که استفاده از بسترهای مناسب و پیش تصفیه‌های مؤثر عملکرد سلول‌های الکترولیز میکروبی را به میزان قابل توجهی بهبود می‌بخشد. در زمینه آب‌گیری پذیری لجن نیز فرآیندهای الکتروشیمیایی با تخریب مواد پلیمری برون سلولی و کاهش چسبندگی ذرات، مقاومت ویژه فیلتراسیون و زمان مکش موئینه‌ای را کاهش داده و علاوه بر این، ارتقای عملکردی فرایند آب‌گیری نقش مهمی در کاهش هزینه‌های حمل و نقل و نگهداری تصفیه‌خانه‌ها ایفا می‌کند. با توجه به اهمیت پایداری و کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای، استفاده از لجن فاضلاب به‌عنوان منبع تولید انرژی پاک، ضمن مدیریت مؤثر پسماند، می‌تواند در چارچوب اقتصاد چرخشی و گذار به راهکار تامین انرژی کم کربن نقش کلیدی ایفا کند.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از همه کسانی که در انجام مطالعه همکاری نمودند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

طبیعی به صورت محکم به سطح سلول و ماتریس لجن متصل است. اعمال حرارت باعث شکستن پیوندهای هیدروژنی و تغییر در ساختار مواد پلیمری برون سلولی می‌شود و بخش زیادی از مواد پلیمری برون سلولی پیوندی محکم را به فرم پیوندی سست و محلول تبدیل می‌کند [۳۹]. افزایش مواد پلیمری برون سلولی معمولاً باعث کاهش قابلیت آب‌گیری می‌شود، زیرا مولکول‌های بزرگ آن مانع آزادسازی آب می‌شوند. با این حال، روش‌های پیش تصفیه‌ای مانند هیدرولیز حرارتی، مواد پلیمری برون سلولی را به حالت محلول تبدیل می‌کنند و آب جزئی که به مواد پلیمری برون سلولی متصل بوده آزاد می‌شود، که منجر به بهبود قابلیت آب‌گیری لجن می‌شود [۴۰]. پیش تصفیه حرارتی در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت نقش مهمی در بهبود آب‌گیری‌پذیری لجن فعال فاضلاب ایفا می‌کند؛ افزایش دما باعث تخریب بخشی از مواد پلیمری برون سلولی و آزادسازی آب متصل به آن می‌شود و در نتیجه، مدت زمان مکش موئینه‌ای و محتوای آب لجن کاهش یافته و قابلیت آب‌گیری افزایش می‌یابد [۴۱].

پیش هیدرولیز حرارتی نشان داد که مقاومت ویژه فیلتراسیون لجن کاهش یافته و قابلیت آب‌گیری بهبود یافته است. داده‌ها نشان داد که هیدرولیز حرارتی با تأثیر بر دافعه الکترواستاتیک ذرات لجن، مانع‌های دافعه بین ذرات را کاهش می‌دهد و این امر شرایط را برای لخته‌سازی ذرات مناسب‌تر می‌سازد. با افزایش دما، تأثیر دافعه لایه‌های مواد پلیمری برون سلولی پیوندی محکم و پیوندی سست بر انعقاد ذرات کاهش یافته و انعقاد بین ذرات لجن راحت‌تر می‌شود، در حالی که اثر مواد پلیمری برون سلولی پیوندی محلول بر انعقاد ذرات لجن چندان قابل توجه نیست [۴۲]. ترکیب پیش تصفیه حرارتی در دمای بالا با تخمیر کنترل شده باعث تخریب ساختار ژل مانند لجن و کاهش مواد پلیمری برون سلولی می‌شود، که نقش مهمی در نگهداری آب محصور شده دارد.

این فرآیند همچنین بار سطحی ذرات لجن را کاهش داده و دافعه بین آن‌ها را کمتر می‌کند، در نتیجه ذرات راحت‌تر به یکدیگر می‌چسبند و تشکیل خوشه می‌دهند. این تغییرات ساختاری منجر به کاهش مقاومت ویژه فیلتراسیون و مدت زمان مکش موئینه‌ای شده و آب‌گیری پذیری لجن را به میزان قابل توجهی بهبود می‌بخشد، ضمن آنکه انجام فرایند تخمیر باعث هیدرولیز بیشتر مواد آلی و تولید اسیدهای چرب فرار شده و نقش تکمیلی در افزایش کارآمدی فرایند آب‌گیری ایفا می‌کند [۴۳].

این تغییرات نشان می‌دهد که کاهش مواد پلیمری برون سلولی پیوندی محکم و سست موجب بهبود فیلتراسیون و کاهش مقاومت ویژه شده، در حالی که افزایش مواد پلیمری برون سلولی محلول اثرات متفاوتی بر فیلتراسیون لجن دارد. بخش پروتئین کاهش یافته در مواد پلیمری برون سلولی پیوندی محکم قابلیت آب‌گیری پذیری لجن را بهبود بخشید. علاوه بر این، مواد پلیمری برون سلولی پیوندی محکم ممکن است ژل پایداری را تشکیل دهد که از نشت آب از منافذ لخته‌ها جلوگیری کند و

## تضاد منافع

در اين مطالعه نويسندگان هيچگونه تضاد منافع ندارند.

## تامين مالي مطالعه

مطالعه حاضر برگرفته از پايان نامه دکترا در دانشکده مهندسي عمران، آب و محيط زيست، دانشگاه شهيد بهشتي و با کد طرح پايان نامه ۵۹۲۹۰۲۲۰ است.

## ملاحظات اخلاقي

اين مطالعه ملاحظات اخلاقي ندارد.

## مشارکت نويسندگان

ايده و طراحی مطالعه: گاگيک بدليانس قلی کندی

جمع آوری داده‌ها: فاطمه شكري داريان

تحليل و تفسير داده‌ها: گاگيک بدليانس قلی کندی، فاطمه شكري داريان

نگارش پيش نويس مقاله: فاطمه شكري داريان

بازبيني انتقادی مقاله از نظر محتوای علمی: گاگيک بدليانس قلی کندی،

بيژن يگانه، احسان آقايانی

## استفاده از هوش مصنوعي

در تدوين مقاله برای ويرايش یک تصوير جهت بهبود وضوح از هوش

مصنوعي (Chat GPT) استفاده شده است.

## References

1-Gomonov K, Permana CT, Handoko CT. The growing demand for hydrogen: current trends, sectoral analysis, and future projections. *Unconventional Resources* 2025; 6:100176. Doi: 10.1016/j.unres.2025.100176.

2- Zhang Q, Jiao Y, He C, Ruan R, Hu J, Ren J, et al. Biological fermentation pilot-scale systems and evaluation for commercial viability towards sustainable biohydrogen production. *Nature communications* 2024; 15(1):4539. Doi: 10.1038/s41467-024-48790-4.

3- Cheng D, Ngo HH, Guo W, Chang SW, Nguyen DD, Zhang S, et al. Impact factors and novel strategies for improving biohydrogen production in microbial electrolysis cells. *Bioresource Technology* 2022; 346:126588. Doi: 10.1016/j.biortech.2021.126588.

4- Yang G, Wang J. Enhancing biohydrogen production from disintegrated sewage sludge by combined sodium citrate-thermal pretreatment. *Journal of Cleaner Production* 2021; 312:127756. Doi: 10.1016/j.jclepro.2021.127756.

5- Wei Y, Zhao H, Qi X, Yang T, Zhang J, Chen W, et al. Direct interspecies electron transfer stimulated by coupling of modified anaerobic granular sludge with microbial electrolysis cell for biogas production enhancement. *Applied Energy* 2023; 341:121100. Doi: 10.1016/j.apenergy.2023.121100.

6- Qin J, Zhu Z, Chen Z, Wang X, Zhang Y, Chen H. Synthesis, characterization and application of dewatered municipal sludge-based cream site and its phosphorus adsorption characteristics. *Journal of Cleaner Production* 2023; 391:136216. Doi: 10.1016/j.jclepro.2023.136216.

7- Li XH, Liang DW, Bai YX, Fan YT, Hou HW. Enhanced H<sub>2</sub> production from corn stalk by integrating dark fermentation and single chamber microbial electrolysis cells with double anode arrangement. *International Journal of Hydrogen Energy* 2014; 39(17):8977-82.

8- Ahmad A, Rambabu K, Hasan SW, Show PL, Banat F. Biohydrogen production through dark fermentation: Recent trends and advances in transition to a circular bioeconomy. *International Journal of Hydrogen Energy* 2024; 52:335-57.

9- Akbay HEG, Deniz F. Enhancement of biohydrogen production efficiency in dark co-fermentation of sewage sludge and fruit processing wastes through ultrasonic, alkali, acid, and thermal pretreatment. *International Journal of Hydrogen Energy* 2025; 131:70-81.

10- Zhou P, Li D, Zhang C, Ping Q, Wang L, Li Y. Comparison of different sewage sludge pretreatment technologies for improving sludge solubilization and anaerobic digestion efficiency: A comprehensive review. *Science of the Total Environment* 2024; 921:171175. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2024.171175.

11- Mitraka GC, Kontogiannopoulos KN, Batsioulas M, Baniias GF, Zouboulis AI, Kougias PG. A comprehensive review on pretreatment methods for enhanced biogas production from sewage sludge. *Energies* 2022; 15(18):6536.

12- Usman M, Kavitha S, Kannah Y, Yogalakshmi K, Sivashanmugam P, Bhatnagar A, Kumar G. A critical review on limitations and enhancement strategies associated with biohydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy* 2021; 46(31):16565-90.

13- Zhang Y, Xu S, Cui M, Wong JW. Effects of different thermal pretreatments on the biodegradability and bioaccessibility of sewage sludge. *Waste Management* 2019; 94:68-76.

14- Marone A, Ayala Campos OR, Trably E, Carmona Martínez AA, Moscoviz R, Latrille E, et al. Coupling dark fermentation and microbial electrolysis to enhance biohydrogen production from agro-industrial wastewaters and by-products in a bio-refinery framework. *International Journal of Hydrogen Energy* 2017; 42(3):1609-21.

15- Posadas-Hernández M, García-Rojas JL, Khamkure S, García-Sánchez L, Gutierrez-Macías T, Morales-

- Morales C, et al. Enhanced biohydrogen production in a membraneless single-chamber microbial electrolysis cell during high-strength wastewater treatment: effect of electrode materials and configurations. *International Journal of Hydrogen Energy* 2023; 48(2):495-513.
- 16- Cao B, Zhang T, Zhang W, Wang D. Enhanced technology based for sewage sludge deep dewatering: A critical review. *Water Research* 2021; 189:116650. Doi: 10.1016/j.watres.2020.116650.
- 17- Masihi H, Gholikandi GB. Employing Electrochemical-Fenton process for conditioning and dewatering of anaerobically digested sludge: A novel approach. *Water Research* 2018; 144:373-82. Doi: 10.1016/j.watres.2018.07.054.
- 18- Zeng Q, Huang H, Tan Y, Chen G, Hao T. Emerging electrochemistry-based process for sludge treatment and resources recovery: A review. *Water Research* 2022; 209:117939. Doi: 10.1016/j.watres.2021.117939.
- 20- Yang G, Wang J. Enhancing biohydrogen production from waste activated sludge disintegrated by sodium citrate. *Fuel* 2019; 258:116177. Doi: 10.1016/j.fuel.2019.116177.
- 20- Oosterhuis M, Ringoot D, Hendriks A, Roeleveld P. Thermal hydrolysis of waste activated sludge at Hengelo wastewater treatment plant, the Netherlands. *Water Science and Technology* 2014; 70(1):1-7.
- 21- Syaichurrozi I, Hidayatullah MA, Nurullah A, Suhendi E, Kustiningsih I, Susanti DY, et al. Enhanced biohydrogen production from palm oil mill effluent using single-stage process of dark fermentation and microbial electrolysis cell at various initial pHs. *Renewable Energy* 2025; 249:123161. Doi: 10.1016/j.renene.2025.123161.
- 22- Baird RB, Eaton AD, Rice EW, eds. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 23rd ed. Washington DC: American Public Health Association 2017.
- 23- Sanchis-Perucho P, Torres KMM, Ferrer J, Robles A. Evaluating the potential of off-line methodologies to determine sludge filterability from different municipal wastewater treatment systems. *Chemical Engineering Journal* 2023; 468:143537. Doi: 10.1016/j.cej.2023.143537.
- 24- Sadat Hosseini SA, Badalians Gholikandi G. Performance improvement of thickening and dewatering processes of biological excess sludge and anaerobic digested sludge of municipal wastewater using acid-thermally modified Nano-Montmorillonite. *Journal of Health in the Field* 2025; 12(4):51-63 (In Persian).
- 25- Oshiki M, Yamaguchi G, Takahashi K, Okabe S, Kawano S, Nakagawa J, et al. Thermophilic dark fermentation for hydrogen and volatile fatty acids production from breadcrumbs. *Chemical Engineering Journal* 2024; 501:157633. Doi: 10.1016/j.cej.2024.157633.
- 26- Alvarez AJ, Fuentes KL, Arias CA, Chaparro TR. Production of hydrogen from beverage wastewater by dark fermentation in an internal circulation reactor: Effect on pH and hydraulic retention time. *Energy Conversion and Management*: X 2022; 15:100232. Doi: 10.1016/j.ecmx.2022.100232.
- 27- Sun X, Wang Z, Wu W, Zhou S, Li J, Yan B, et al. Dark fermentation of biomass for enhanced hydrogen production: A review of pretreatment strategies, microbial enhancement, and process regulation. *International Journal of Hydrogen Energy* 2025; 175:151546. Doi: 10.1016/j.ijhydene.2025.151546.
- 28- Tang T, Chen Y, Liu M, Du Y, Tan Y. Effect of pH on the performance of hydrogen production by dark fermentation coupled denitrification. *Environmental Research* 2022; 208:112663. Doi: 10.1016/j.envres.2021.112663.
- 29- Li X, Guo L, Liu Y, Wang Y, She Z, Gao M, Zhao Y. Effect of salinity and pH on dark fermentation with thermophilic bacteria pretreated swine wastewater. *Journal of Environmental Management* 2020; 271:111023.
- 30- Ziara RM, Miller DN, Subbiah J, Dvorak BI. Lactate wastewater dark fermentation: the effect of temperature and initial pH on biohydrogen production and microbial community. *International Journal of Hydrogen Energy* 2019; 44(2):661-73.
- 31- Aranda-Jaramillo B, García-Depraect O, Aguilar-Juárez O, Archundia-Amador M, León-Becerril E. Continuous hydrogen production from cheese whey in a single-stage lactate-driven dark fermentation reactor. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 2025; 106307. Doi: 10.1016/j.jtice.2025.106307.
- 32- Prakash NS, Maurer P, Horn H, Hille-Reichel A. Valorization of organic carbon in primary sludge via semi-continuous dark fermentation: First step to establish a wastewater biorefinery. *Bioresource Technology* 2024; 397:130467. Doi: 10.1016/j.biortech.2024.130467.
- 33- Ahmadi H, Jalil A, Khan S, Fabrice N, Zhang C, Yu Z. Optimized biohydrogen production from sewage sludge: Advanced pretreatment strategies in dark fermentation and microbial electrolysis cells. *Energy Nexus* 2025; 100573. Doi: 10.1016/j.nexus.2025.100573.
- 34- Gottardo M, Dosta J, Cavinato C, Crognale S, Tonanzi B, Rossetti S, et al. Boosting butyrate and hydrogen production in acidogenic fermentation of food waste and sewage sludge mixture: A pilot scale demonstration. *Journal of Cleaner Production* 2023; 404:136919. Doi: 10.1016/j.jclepro.2023.136919.
- 35- Kotay SM, Das D. Novel dark fermentation involving bioaugmentation with constructed bacterial consortium for enhanced biohydrogen production from pretreated sewage sludge. *International Journal of Hydrogen Energy* 2009; 34(17):7489-96.

- 36- Yu Z, Leng X, Zhao S, Ji J, Zhou T, Khan A, et al. A review on the applications of microbial electrolysis cells in anaerobic digestion. *Bioresource Technology* 2018; 255:340-48.
- 37- Li M, Zhang Q, Liu Y, Zhu J, Sun F, Cui MH, et al. Enhancing degradation of organic matter in microbial electrolytic cells coupled with anaerobic digestion (MEC-AD) systems by carbon-based materials. *Science of the Total Environment* 2023; 900:165805. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.165805.
- 38- Garduño Ibarra IR, Tsitouras A, Tanga S, Kinsley C, Baranova E. Electrochemically assisted dark fermentation for enhanced Hydrogen and Butyric Acid production from brewery waste slurry. *Bioresource Technology Reports* 2025; 102238. Doi: 10.1016/j.biteb.2025.102238.
- 39- Cabeza C, van Lier JB, Van Der Steen P. Effects of thermal and enzymatic pre-treatments on the solubilisation of extracellular polymeric substances (EPS) and subsequent anaerobic digestion of microalgae-bacterial biomass. *Algal Research* 2023; 72:103130. Doi: 10.1016/j.algal.2023.10313040.
- 40- Zhang J, Li N, Dai X, Tao W, Jenkinson IR, Li Z. Enhanced dewaterability of sludge during anaerobic digestion with thermal hydrolysis pretreatment: New insights through structure evolution. *Water Research* 2018; 131:177-85. Doi: 10.1016/j.watres.2017.12.042.
- 41- Chen X, Huang J, Zhao J, Hu X, Zhang J, Yu X, et al. Destruction of sludge floc and extracellular polymeric substances structure by natural deep eutectic solvent with thermal treatment assistant for synergistic promotion of dewaterability and protein recovery from waste-activated sludge. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 2025; 13(3):116702. Doi: 10.1016/j.jece.2025.116702.
- 42- Wei Y, Zhou Y, Wang S, Chen H. Understanding the mechanism of thermal hydrolysis to improve sludge dewaterability based on surface thermodynamics and XDLVO theory. *Journal of Water Process Engineering* 2024; 68:106514. Doi: 10.1016/j.jece.2025.116702.
- 43- Shi X, Zhu L, Li B, Liang J, Li XY. Surfactant-assisted thermal hydrolysis of waste activated sludge for improved dewaterability, organic release, and volatile fatty acid production. *Waste Management* 2021; 124:339-47.
- 44- Wu B, Su L, Dai X, Chai X. Development of montmorillonite-supported nano CaO<sub>2</sub> for enhanced dewatering of waste-activated sludge by synergistic effects of filtration aid and peroxidation. *Chemical Engineering Journal* 2017; 307:418-26.



Journal homepage: <https://journals.sbmu.ac.ir/jhf>



## Performance evaluation of an innovative hybrid dark fermentation–microbial electrolysis cell system for biohydrogen production and sludge dewaterability improvement using primary and waste activated sludge

Fatemeh Shokri Dariyan<sup>1</sup> , Gagik Badalians Gholikandi<sup>1\*</sup> , Bijan Yeganeh<sup>1</sup> , Ehsan Aghayani<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Department of Water, Wastewater and Environmental Engineering, Faculty of Civil, Water and Environmental Engineering, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

<sup>2</sup>Research Center for Environmental Contaminants (RCEC), Abadan University of Medical Sciences, Abadan, Iran.

### Abstract

**Background and Aims:** Biohydrogen production from sewage sludge serves as a dual solution for sustainable energy supply and effective waste management. This study aims to investigate the feasibility of a combined Dark Fermentation (DF) and Microbial Electrolysis Cell (MEC) system to enhance hydrogen yield while simultaneously improving the dewaterability of municipal sewage sludge.

**Materials and Methods:** Primary and waste activated sludge (WAS) samples were collected from units 1 to 4 of the South Tehran Wastewater Treatment Plant and underwent thermal pretreatment. The samples were then introduced into single-stage systems of Dark Fermentation (DF) and a combined Dark Fermentation-Microbial Electrolysis Cell (DF-MEC). Biohydrogen yield and sludge dewaterability were evaluated based on parameters including pH, Volatile Fatty Acids (VFAs), hydrogen production yield, Specific Resistance to Filtration (SRF), Capillary Suction Time (CST), and the structural characteristics of Extracellular Polymeric Substances (EPS). This research was conducted in full compliance with all ethical principles and considerations throughout all stages.

**Results:** The integrated system significantly increased the biohydrogen yield at pH 6 compared to the Dark Fermentation (DF) process. The hydrogen yields for primary sludge and waste activated sludge (WAS) reached 38.13 and 19.66 mLH<sub>2</sub>/gVS, respectively. Furthermore, this system facilitated sludge disintegration and the release of bound water, leading to a substantial enhancement in the dewaterability of the effluent sludge.

**Conclusion:** The application of the integrated system combined with thermal pretreatment increases biohydrogen production yield while improving the performance of the municipal sewage sludge dewatering process, and can be proposed as an efficient solution for optimal sludge management and clean energy supply.

**Keywords:** Sludge treatment; Dark fermentation; Microbial electrolysis cell; Biohydrogen production; Dewaterability.

**Please cite this article as:** Shokri Dariyan F, Badalians Gholikandi G, Yeganeh B, Aghayani E. Performance evaluation of an innovative hybrid dark fermentation–microbial electrolysis cell system for biohydrogen production and sludge dewaterability improvement using primary and waste activated sludge. *Journal of Health in the Field* 2025; 13(3):3-18. **Doi:** <https://doi.org/10.22037/jhf.v13i3.51603>.

**Corresponding Author:** Department of Occupational Health and Safety Engineering, Faculty of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

**Corresponding Author:** Department of Water, Wastewater and Environmental Engineering, Faculty of Civil, Water and Environmental Engineering, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

**Email:** [g\\_badalians@sbu.ac.ir](mailto:g_badalians@sbu.ac.ir)

**Received:** 4 December 2025

**Accepted:** 24 February 2026