نهمین کنگره ملی مهندسی شیمی ایران

دانشگاه علم و صنعت ایران
۳-۵ آذر ماه ۱۳۸۳

تاثیر منبع کربن و نیتروژن بر عملکرد فنوکارئت کرایزسپریوم در فنل زدایی از پساب فرایند استخراج روغن از زیتون

مجتبی احمدی[۱]، مهرناز مهرانیان[۱]، بابک بنکدارپور[۱]، فرزانه وهاب زاده[۱*]
۱. دانشکده مهندسی شیمی- دانشگاه صنعتی امیرکبیر
far@cic.aut.ac.ir

چکیده

پساب استخراج روغن از میوه زیتون (OMW*) حاوی محتوای بالایی از ترکیبات فنلی است (۵،۲ گرم در لیتر) که این مواد بخش اصلی بار آلایندگی پساب مزبور را شامل میشود (COD= ۱۸۱ g/L) . در این تحقیق آلاینده زدایی زیستی پساب OMW با استفاده از قارچ ریسه سفید فنوکارئت کرایزسپریوم مورد بررسی قرار گرفت.
تهیه محیط رشد فنوکارئت کرایزسپریوم با به کارگیری پساب در حجمهایی مشخصی (۲۰ و ۳۰ درصد حجمی پساب در محیط) و نیز همراهی با اضافه نمودن گلوکز بعنوان منبع کربنی و آمونیوم سولفات بعنوان منبع نیتروژن غیر آلی، به انجام رسید. عملکرد قارچ در کاهش کل مواد فنلی و ارتودی فنل به ترتیب۲۰ و ۴۰ درصد بوده است. رنگ پساب نیز به عنوان شاخصی از بار آلایندگی پساب مورد آزمایش، در این تیمار زیستی کاهشی در حد ۶۰ درصد را داشته است. در این رابطه تغییرات غلظت منبع کربن و نیز نیتروژن بررسی گردیده، غلظت مناسب گلوکز و آمونیوم سولفات در محیط کشت رشد قارچ به ترتیب ۵ و ۱ گرم در لیتر بود و با توجه اهمیت متغیر pH در فرایند پساب زدایی زیستی OMW این شاخص نیز مورد ملاحظه قرار گرفته است.

کلمات کلیدی: Phanerochaete chrysosporium، پساب استخراج روغن از زیتون و ترکیبات فنلی

مقدمه

ترکیبات فنلی در پساب صنایع مختلفی مانند فرآوری زغال سنگ، پتروشیمی، تولید مواد شیمیایی آلی و غیره وجود دارد. پساب فرایند استخراج روغن از میوه زیتون(OMW) نیز حاوی ترکیبات فنلی میباشد که نمایانگر رنگ سیاه آن است. این پساب خواص ضد رشد گیاهان و باکتریها دارد[۱]. حدود ۱۰ درصد ترکیبات آلی پساب مواد فنلی است. این ترکیبات از نظر شبیه به لیگنین هستند[۵،۴] که از مشتقات اسید سینامیک، اسید بنزوئیک و ترکیبات تیروزلی میباشد[۷]. تجزیه این ترکیبات با استفاده از Pleurous sp., Candida troplis, Penicillium sp, Geotrichum sp., Aspergillus sp, Aspergillus niger و Phanerochaete chrysosporium مطالعه شده است[۲،۱،۳،۶ و ۸]. مطالعات نشان داده که قارچ ریسه سفید فنوکارئت کرایزسپریوم به دلیل دارا بودن آنزیمهای لیگنین پراکسیداز و منگنز پراکسیداز توانایی تجزیه ترکیبات فنلی را دارد[۱].

در این تحقیق هدف بررسی و بهینه سازی شرایط محیطی شامل منابع کربنی و نیتروژن در محیط رشد قارچ فنوکارئت کرایزسپریوم به منظور حذف ترکیبات فنلی از پساب فرایند استخراج روغن از زیتون میباشد علاوه بر خذف ترکیبات فوق میزان خذف رنگ نیز مورد بررسی قرار میگیرد.

مواد و روشها

میکروارگانیسم

قارچ مورد استفاده در این تحقیق فنوکارئت کرایزسپریوم (Phanerocaete chrysosporium DSM 1556) است که بر روی محیط کشت Malt Agar 20% نگهداری میشود جهت تلقیح به محیط حاوی پساب، اسپورهای روی سطح محیط کشت جامد با آب مقطر استریل شده شسته شده و محلول سوسپانسیون حاوی اسپور تهیه میشود. تعداد اسپورهای محلول فوق حدود $۲،۵\times۱۰^{۶}$ اسپور در هر میلی لیتر محلول سوسپانسیون است. از محلول فوق به میزان ۱۰ درصد به محلول حاوی پساب غنی شده اضافه میشود.

آماده سازی پساب

پساب مصرفی در این تحقیق از کارخانه روغن زیتون وراویز واقع در رودبار گیلان که استخراج روغن به روش سانتریفوژ انجام می گیرد تهیه شده است.

پساب توسط یک صافی پارچه ای فیلتر شده سپس در ظرفهای کوچک فریز شده اند. پساب با درصدهای حجمی ۲۰ و ۳۰ رقیق شده و با املاح و افزودنیهای مناسب غنی شده و برای حذف ترکیبات فنلی و رنگ مورد آزمایش قرار میگیرد.

سنجش و اندازه گیریها

برای اندازه گیری مواد فنلی پساب ابتدا نمونه پساب با اسید کلریدریک اسیدی شده سپس سه بار با اتیل استات در نسبت حجمی برابر استخراج می‌گردد و توسط سولفات سدیم آبگیری می‌شود. در یک تبخیر کننده اتیل استات خارج می‌گردد و مخلوط باقیمانده در مخلوط متانول آب حل می‌شود. به نمونه استخراج شده محلول کربنات سدیم و معرف فولین افزوده می شود سپس جذب آن در طول موج ۷۲۵ نانومتر نسبت به محلول شاهد اندازه گیری میشود با مقایسه با منحنی استاندارد غلظت مواد فنلی بدست می‌آید[۱].

برای اندازه گیری ترکیبات ارتودی فنلی ابتدا محلول مولیبدات سدیم در اتانول، به نمونه افزوده می‌شود. سپس جذب آن در طول موج ۳۷۰ نانومتر نسبت به محلول شاهد اندازه گیری می‌شود برای تهیه محلول شاهد به جای نمونه از آب مقطر و به جای مولیبدات سدیم از اتانول استفاده می‌گردد. با مقایسه با منحنی استاندارد غلظت مواد ارتودی فنلی بدست می‌آید[۱].

میزان رنگبری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۹۵ نانومتر تعیین میشود.

فرایند حذف ترکیبات فنلی با استفاده فنوکارئت کرایزسپریوم از پساب زیتون در ارلن های مایر ۲۵۰ میلی لیتری انجام می‌گیرد.برای اینکار ابتدا پساب به نسبت ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی با آب رقیق می‌شود سپس به این محلول، مواد معدنی، گلوکز و سولفات آمونیم به ترتیب به عنوان منبع کربن و نیتروژن اضافه می‌شود بعد از استریل و تلقیح با محلول حاوی اسپور در داخل دستگاه شیکر مجهز به سیستم تنظیم دما و دور قرار می‌گیرد. پس از آن میزان حذف رنگ و کل ترکیبات فنلی و ارتودی فنل اندازه گیری میشود.

نتایج و بحث

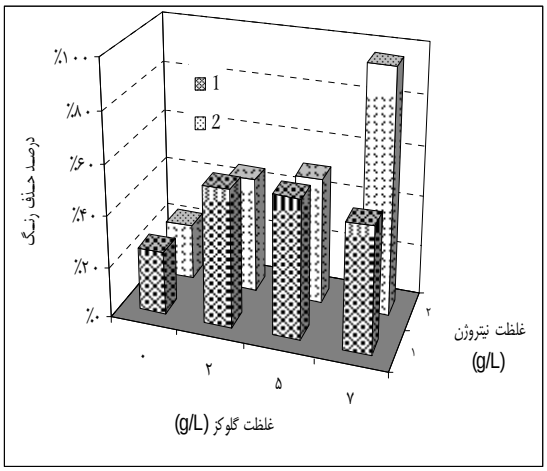
تاثیر منابع کربن و نیتروژن با افزودن گلوکز و سولفات آمونیوم به پساب رقیق شده در درصد حجمی ۲۰ و ۳۰ بر فرایند حذف حذف رنگ و کل ترکیبات فنلی و ارتودی فنل مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور گلوکز با غلظتهای ۰، ۲، ۵ و ۷ گرم در لیتر و سولفات آمونیوم نیز با غلظتهای ۱ و ۲ گرم در لیتر به پساب افزوده شد. تاثیر آنها بر حذف حذف رنگ و کل ترکیبات فنلی و ارتودی فنل در شکل (۱) نشان داده شده است. با افزایش گلوکز درصد حذف ترکیبات فنلی و رنگ افزایش می یابد. گلوکز عامل مهمی در تولید آنزیمهای تجزیه کننده ترکیبات فنلی میباشد. افزایش غلظت آن تا ۵ گرم در لیتر باعث افزایش حذف ترکیبات فنلی و رنگ میشود. در مورد منبع نیتروژن آزمایشها نشان داد که افزایش غلظت آن تاثیر چندانی بر فرایند حذف ندارد.

در شکل (۲) روند رشد قارچ فنوکارئت کرایزسپریوم در محلول حاوی پساب OMW نشان داده شده است. با افزایش مقدار پساب در محلول، غلظت توده قارچی کاهش میبابد.

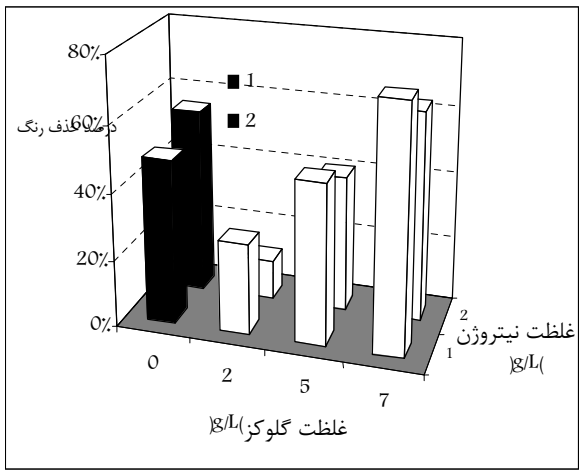
نحوه تغییرات pH محلول حاوی پساب OMW مورد تیمار با قارچ در شکل (۳) ارائه شده است. pH محلول فوق در طول فرایند کاهش میبابد.

نتیجه گیری

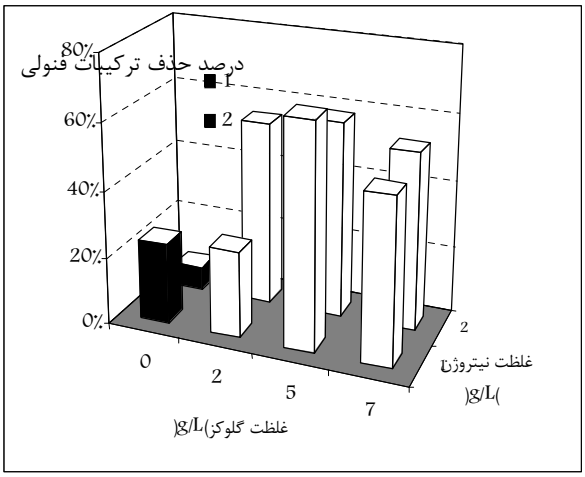
قارچ فنوکارئت کرایزسپریوم توانایی حذف ترکیبات فنلی و رنگ را دارا است و از آنجا که پساب OMW حاوی ترکیبات فنلی تجزیه ناپذیر زیستی است لذا با استفاده از این قارچ و با افزوده نمودن مقادیر کمی مواد افزودنی به عنوان منبع کربن و نیتروژن برای تامین وضعیت بهینه برای رشد قارچ، کاهش بار آلایندگی پساب مزبور امکان پذیر میباشد. سیر کاهشی شاخصهای اصلی آلایندگی این پساب در حدی قابل ملاحظه ارزیابی میشود. به منظور گسترده تر و در حین حال عمیق تر دیدن مساله (فعالیت سیستم آنزیمی درگیر فنوکارئت کرایزسپریوم و پاسخگویی آن به تغییرات محیطی) کار بیشتری در این گروه در دست اجرا میباشد.



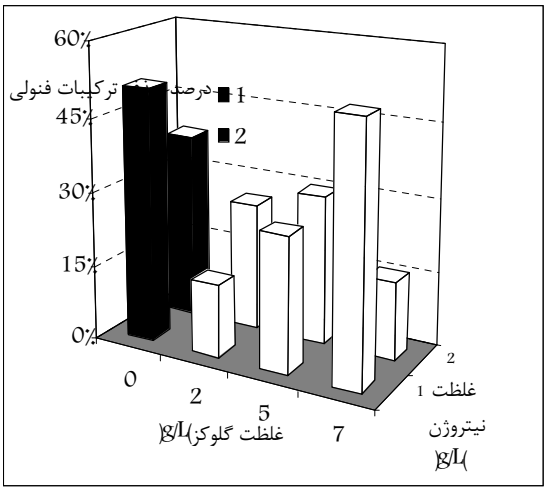
a



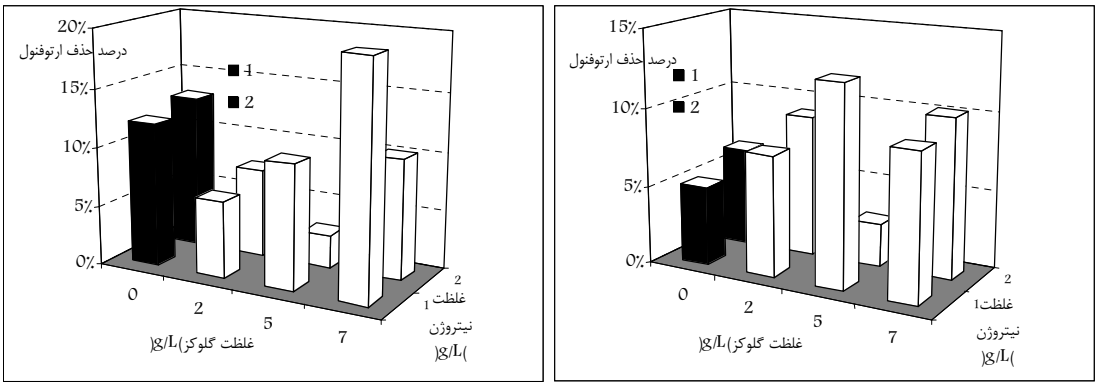
b



a

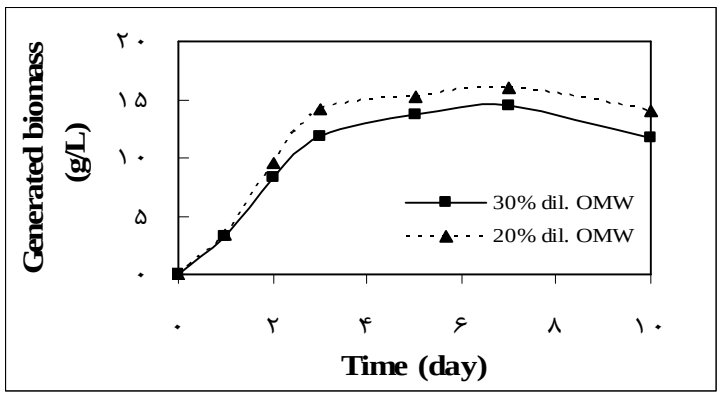


b

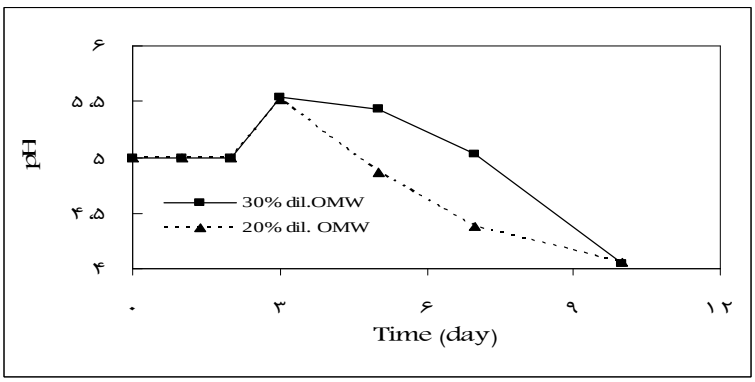


b a

شکل۱- کارایی قارچ فنوکارئت کرایزسپریوم در حذف رنگ، کل ترکیبات فنلی و ارتودی فنل در درصدهای حجمی تعیین شده ای از پساب OMW همراه با غلظتهای مشخصی از منبع کربن (گلوکز) و منبع نیتروژن غیر آلی (۲۰a و ۳۰ b درصد حجمی)



شکل۲- نمودار رشد قارچ فنوکارئت کرایزسپریوم در محلول حاوی پساب OMW



شکل۳- سیر زمانی تغییرات pH محلول پساب تیمار شده

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر به عنوان بخشی از یک پروژه تعریف شده نزد سازمان گسترش و نوسازی صنایع ایران است و از حمایت مالی این سازمان و هماهنگی های انجام شده با دفتر ارتباط با صنعت دانشگاه صنعتی امیرکبیر تشکر و قدردانی می شود.

منابع و مراجع

1. Carycy, A. G. and Vencesslada, J. L. "Removal of phenol compounds from olive mill wastewater using Phanerochaete chrysosporium, Aspergillus niger, Aspergillus terreus and Geotrichum candidum", Process Biochemistry 35,751-758 (2000).

2. Tsioulpas, A. and Dimou, D., "Phenolic removal in olive oil mill wastewater by strains of Pleurotus spp. in respect to their phenol oxidase (laccase) activity", Bioresource Technology, 84, 251-257 (2002).

3. Ettayebi, K. A. and Farouzi E., "Biodegradation of polyphenols with immobilized Candida tropicalis under metabolic induction", FEMS Microbiology Letters, 223, 215-219 (2003).

4. Vlyssides, A. G., Loizides, M. and Karlis, P. K., "Integrated strategic approach for olive oil extraction by-product", Journal of cleaner, (submitted).

5. Eriksson, K., Blanchete, R. A. and Ander, P. "Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components" Springer-Verlag publication, 1990.

6. Robles, A. and Lucas, R., "Biomass production and detoxification of wastewaters from the olive oil industry by strains of Penicillium isolated from wastewater disposal ponds", Bioresource Technology 74, 217-221(2000).

7. Fadila, K. and Chahlaouia, A., "Aerobic biodegradation and detoxification of wastewaters from the olive oil industry", International Biodeterioration & Biodegradation, 51, 37–41(2003).

8. Aggelisa, G. and Iconomoub, D., "Phenolic removal in a model olive oil mill wastewater using Pleurotus ostreatus in bioreactor cultures and biological evaluation of the process", Water Research, 37, 3897–3904 (2003).