

برگشت مجدد پساب پالایش شده فرایند تولید زانتان به دور جدید تخمیر

سمانه صدیقی خویدک^۱

Sedighi.samaneh@yahoo.com

محمد رضا صعودی*^۲

جمشید فولادی^۳

تاریخ دریافت: ۸۷/۳/۲۸

تاریخ پذیرش: ۸۷/۸/۱

چکیده

با توسعه بیوتکنولوژی و فرایندهای تخمیری در ایران اهمیت پالایش این نوع پساب ها و توجه به آن ها افزون تر شده است. یکی از روش های کاهش پساب های تخمیری، برگشت (Backsetting) و مصرف مجدد پساب در دور جدید تخمیر می باشد که در این تحقیق جهت کاهش حجم پساب فرایند تخمیری تولید زانتان و همچنین کاهش مصرف آب مورد استفاده قرار گرفته است. در این پژوهش ابتدا ویژگی های اصلی پسماند حاصل از تخمیر زانتان، به لحاظ شیمیایی و میکروبی تعیین شد. سپس پسماند تخمیر به کشت های جدید در غلظت ها و زمان های مختلف افزوده شد و اثرات فرایند فوق بر کمیت و کیفیت تولید محصول بررسی گردید.

نتایج نشان داد که استفاده از روش های مختلف فیزیکوشیمیایی برای فرآوری پسماند، قبل از برگشت دادن آن به دور جدید تخمیر لازم است که در این تحقیق، اثر پسماند پالایش شده با فیلتر C₁₈ بررسی شد. بررسی فراتر مشخص کرد که مصرف پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ در تراکم ۲۵٪ حجمی، در محیط کشت تولید زانتان موجب تولید ۱۱/۹۱ g/L محصول خام شد در حالی که در محیط کشت کنترل مثبت (محیط تولید بدون پسماند)، ۱۱/۶۸ g/L محصول خام تولید شد. همچنین افزایش ۱۰۷٪ محصول خام، ۷۰٪ زانتان خالص و ۶۷٪ ویسکوزیته نسبت به کنترل منفی (محیط تولید که در آن از پسماند تیمار نشده، استفاده می شود) مشاهده شد.

واژه های کلیدی: پسماند تخمیر، زانتان، فیلتر C₁₈، برگشت مجدد، *Xanthomonas campestris*

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه الزهراء، ونک، تهران.
۲- دانشیار میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه الزهراء، ونک، تهران (مسئول مکاتبات).
۳- استادیار بیوتکنولوژی بخش میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه الزهراء، ونک، تهران.

مقدمه

صمغ زانتان یک بیوپلیمر میکروبی است که به طور صنعتی از تخمیر سوکروز یا گلوکز با استفاده از باکتری *Xanthomonas campestris* در مقیاس انبوه تولید می شود و کاربرد گسترده ای در صنایع مختلف دارد (۱ و ۲).

واحدهای تولید کننده زانتان از جمله صنایعی می باشند که از مقادیر زیاد آب استفاده می کنند و حجم انبوهی پساب تولید می نمایند. با تقطیر پساب ناشی از فرایند تخمیر و استخراج، می توان از الکل بازیافتی دومرتبه در چرخه تولید زانتان استفاده کرد. ولی پسماند باقی مانده، می تواند که قبل از تخلیه به محیط فرآوری شود.

برگشت (Backsetting) به معنای استفاده مجدد از بخشی از پسماند تقطیر فاقد الکل (الکل زدایی شده) از تخمیر قبلی، در دور جدید تخمیر است. برگشت دادن پسماندهای تخمیر و مصرف آن در دور جدید تخمیر به عنوان آب مصرفی یا آب رقیق کننده در تهیه محیط کشت، در صنایع تولید کننده الکل دارای پیشینه طولانی است که به برخی از آن ها در این جا اشاره می شود (۳ و ۴).

برگشت پسماند تقطیر در تراکم حجمی ۵۰٪ و در ۵ دور تخمیر، توسط Chin و Ingledew در سال ۱۹۹۳. مصرف مجدد ۸۰٪ از پسماند تقطیر توسط Ronkainen در سال ۱۹۷۸. برگشت پسماند تقطیر در تراکم حجمی ۱۰۰٪ در ۶ دوره تخمیر توسط St. Julian در سال ۱۹۹۰ و مصرف مجدد پسماندهای تقطیر ملاس چغندر قند در تراکم حجمی ۴۰٪ در دور جدید تخمیر توسط Luca و Delweg در سال ۱۹۸۸ (۵). برگشت پسماند تقطیر در تراکم حجمی ۱۰۰٪ در هفت دور تخمیر و در تراکم ۷۰٪ حجمی در ده دور تخمیر توسط Wall در سال ۱۹۸۳ (۶). گزارش مصرف مجدد پسماند های تقطیر ملاس چغندر قند، در دور جدید تخمیر، توسط Leiper et al. در سال ۲۰۰۶ (۷). که در همه موارد یاد شده، برگشت پسماند اثر منفی بر روی رشد مخمر یا بازده تخمیر و تولید الکل نداشت.

هرچند فرایند برگشت منجر به کاهش آب مصرفی و به تبع آن کاهش حجم پسماند و کاهش انرژی و ظرفیت لازم برای تیمار و دفع پسماند و حفاظت محیط زیست از آلودگی می شود، با این حال فرایند برگشت می بایستی به دقت مورد استفاده قرار گیرد و این یک راه حل نسبی برای کاهش مصرف آب است و نمی توان از این فرایند به صورت نامحدود، به عنوان یک جزء اصلی آبی استفاده کرد. زیرا منجر به تغلیظ تصاعدی و تجمع متابولیت های ثانویه مهار کننده و جلوگیری کننده از تخمیر می شود که این ترکیبات می تواند سوبستراهای متابولیز نشده یا غیر قابل تخمیر، ترکیبات ثانویه تولید شده طی تقطیر و یا به دلیل اثرات فشار اسمزی ناشی از تجمع متابولیت های ثانویه باشد (۵ - ۳).

در این تحقیق قبل از مصرف مجدد پسماند در دور جدید تخمیر، پسماند با فیلتر C₁₈ تصفیه شد. استفاده از تکنیک های استخراج فاز جامد از مایع (Solid-Phase Extraction: SPE) یکی از راه های مطلوب برای جستجو و آنالیز دامنه وسیعی از میکرو آلاینده های آلی در آب است.

با پمپ کردن نمونه آبی از این دیسک، مواد آلی موجود در نمونه می توانند با گروه های عملکردی غیر قطبی جاذب واکنش داده و از نمونه جدا و حذف شوند. سپس این ترکیبات آلی جدا شده، با یک حجم کوچک حلال آلی شستشو داده شده و برای تعیین نوع و مقدار آن ها آنالیز می شود (۸-۱۰).

مواد و روش ها

- میکروارگانیسم مورد استفاده:

در این تحقیق از باکتری *Xanthomonas campestris* سویه DSMZ 1706 استفاده شد.

- محیط کشت:

پساب مورد استفاده در این آزمایش از شرکت گام تک تبریز تهیه شد. ابتدا پساب تقطیر و الکل متانول آن جدا گردید و باقی مانده آن به عنوان پسماند به کار برده شد. این پسماند با فیلتر C₁₈ مدل 3M Empore پالیده و صاف شد که برای این منظور و قبل از پمپ کردن نمونه از دیسک، فیلتر مذکور با یک حلال آلی یا مخلوطی از حلال ها، برای حذف مواد تداخلی و مزاحم شستشو داده شده و برای کار آماده (conditioning) شد. پسماند نیز قبلاً برای حذف مواد کلوئیدی درشت، از کاغذ فیلتر معمولی عبور داده شده بود. سپس پسماند از فیلتر C₁₈، با استفاده از کیف Millipore و تحت شرایط خلاء، عبور داده شد (۸ و ۱۰).

- افزودن پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ در مقادیر مختلف و در ساعت های مختلف به محیط کشت تولید زانتان:

برای انجام این آزمایش، پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ در غلظت های مختلف ۰.۲۵٪، ۰.۵۰٪ و ۱.۰۰٪ حجمی در ساعت اولیه و در غلظت ۰.۲۵٪ حجمی در ساعت های ۳۰ و ۵۰ به محیط کشت اضافه شد. در ساعت های ۳۰ و ۵۰ غلظت قند از ۰.۲٪ به ترتیب به ۰.۳٪ و ۰.۴٪ رسانده شد.

انواع محیط کشت های تهیه شده با پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ بدین ترتیب بود:

(۱) محیط تولید زانتان + v/v ۰.۲۵٪ پسماند در ساعت اولیه [25% (0h)].

(۲) محیط تولید زانتان + v/v ۰.۲۵٪ پسماند در ساعت اولیه + v/v ۰.۲۵٪ پسماند در ساعت ۳۰ + ۰.۲۵٪ پسماند در ساعت ۵۰.

[25% (0h), 25% (30h), 25% (50h)].

(۳) محیط تولید زانتان + v/v ۰.۵۰٪ پسماند در ساعت اولیه [50% (0h)].

(۴) محیط تولید زانتان + v/v ۰.۵۰٪ پسماند در ساعت اولیه + v/v ۰.۲۵٪ پسماند در ساعت ۳۰ [50% (0h), 25% (30h)].

(۵) محیط تولید زانتان + v/v ۰.۵۰٪ پسماند در ساعت اولیه + v/v ۰.۲۵٪ پسماند در ساعت ۵۰ [50% (0h), 25% (50h)].

(۶) محیط تولید زانتان + v/v ۰.۵۰٪ پسماند در ساعت اولیه + v/v ۰.۲۵٪ پسماند در ساعت ۳۰ + ۰.۲۵٪ پسماند در ساعت ۵۰ [50% (0h), 25% (30h), 25% (50h)].

(۷) محیط تولید زانتان + v/v ۱.۰۰٪ پسماند در ساعت اولیه [100% (0h)].

(۸) محیط تولید زانتان + v/v ۱.۰۰٪ پسماند در ساعت اولیه + v/v ۰.۲۵٪ پسماند در ساعت ۳۰ + ۰.۲۵٪ پسماند در ساعت ۵۰ [100% (0h), 25% (30h), 25% (50h)].

(۹) محیط تولید زانتان بدون پسماند به عنوان کنترل (در ساعت های ۰، ۳۰ و ۵۰ محیط سنتزی تهیه شده با آب به محیط تولید اضافه شد).

محیط کشت های تهیه شده، با v/v ۰.۵٪ محیط پیش کشت (w/v ۱/۵٪ آب پنیر) حاوی سوسپانسیون سلولی با چگالی نوری (OD) ۰/۵ در طول موج ۶۲۰ nm، تلقیح شد و بعد از ۳۰ ساعت گرماگذاری در دمای ۲۸°C و دور ۱۲۰ rpm، تراکم حجمی ۰.۲۵٪ محیط کشت تهیه شده با آب یا پسماند به آن اضافه و در ساعت ۵۰ نیز تراکم حجمی ۰.۲۵٪ محیط کشت تهیه شده با آب یا پسماند به آن اضافه شد. در این آزمایش از یک محیط کشت کنترل نیز استفاده شد که در ساعت های ۰، ۳۰ و ۵۰، فقط آب به محیط کشت اضافه شده بود و از پسماند در تهیه محیط کشت استفاده نشد.

بعد از ۷۲ ساعت، مقدار تولید محصول خام، ویسکوزیته، زانتان خالص و بیومس اندازه گیری شد.

- آنالیز مواد آلی و معدنی پسماند:

عناصر C, H, N, S با دستگاه CHNOS Elementar مدل Vario EL3 سنجش شد. اساس اندازه گیری این دستگاه، احتراق کاتالیستی در دماهای بالا و در حضور اتمسفر گاز کربنیک - اکسیژن (Oxygenated CO₂ atmosphere) می باشد.

عناصر P و Mg با دستگاه ICP (Inductively Coupled Plasma)، پلاسمای آرگون جفت شده القائی، مدل Varian, Labrotory 150 AX Turbo سنجش شد که این دستگاه، عناصر را به صورت کمی و بر اساس انرژی نشر شده از عناصر سنجش می کند.

مقدار متانول باقی مانده در پسماند با تکنیک کروماتوگرافی و با دستگاه GC (Gas Chromatography) مدل Buck - 910 سنجش شد.

میزان قند پسماند، با روش standard addition و فنل سولفوریک اسید سنجش شد (۱۳ و ۱۴).

برای اندازه گیری مقدار پروتئین پسماند از روش برادفورد (Bradford) استفاده شد (۱۵).

مقادیر BOD₅ (Biological Oxygen Demand) و COD (Chemical Oxygen Demand) پسماند نیز اندازه گیری شد.

- مقایسه بین پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ و پسماند تیمار نشده:

برای انجام این مقایسه دو معیار به کار گرفته شد. یکی میزان کدورت که بیانگر تعداد ذرات معلق در پسماند پالیده است و دیگری تراکم رنگ زانتومونادین که نمادی از جذب ترکیبات آلی به وسیله جاذب می باشد. برای بررسی حذف زانتومونادین، جذب نوری نمونه ها در دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل LABOMED, Inc. با کووت ۱ ml پلاستیکی در

طول موج ۴۴۵ nm اندازه گیری شد و برای اندازه گیری کدورت از دستگاه کدورت سنج (Turbidimeter) دیجیتال مدل L 100 P - HACH استفاده شد.

- اندازه گیری ویسکوزیته:

ویسکوزیته برات تخمیر با ویسکومتر بروک فیلد (Brookfield) مدل Anton paar DV - 1 با میله شماره ۳ در دور ۶۰rpm و در دمای ۲۵°C اندازه گیری شد.

- استخراج زانتان از برات تخمیر:

زانتان با رسوب به وسیله حلال به نسبت ۲/۲ : ۱ حلال به برات تخمیر رسوب داده شد.

- خالص کردن زانتان و اندازه گیری مقدار بیومس:

برای استخراج بیومس از زانتان خام و به دست آوردن زانتان خالص، از روش آنزیمی استفاده شد. برای این منظور، ابتدا محلول ۱٪ هموژن از محصول خام (زانتان ناخالص) تهیه شد و سپس به هر میلی لیتر آن، ۱۰ μl کوکتل آنزیمی با pH ۸ اضافه شد. محلول در دمای ۷۰°C به مدت نیم ساعت به هم زده شد. بعد از خنک شدن محلول، زانتان با حلال استخراج شده و خشک گردید. اختلاف وزن زانتان خالص به دست آمده از محصول خام، نشان دهنده وزن خشک بیومس است.

نتایج

در جدول ۱ نتایج آنالیز مواد آلی و معدنی پسماند آورده شده است.

همان طور که از جدول ۱ استنتاج می شود، پسماند حاوی ترکیبات و عناصر ارزشمند است و احتمال آن وجود دارد که بتوان از آن به عنوان جزئی از محیط کشت برای رشد *X. campestris* در دور جدید تخمیر استفاده کرد.

جدول ۲- میانگین میزان OD 445 nm (بر حسب حذف زانتومونادین) و کدورت نمونه های مختلف

کدورت (NTU)	OD 445 nm	نمونه
۶۷	۰/۳	پسماند تقطیر شده خام
۵۵	۰/۲۳	تیمار با فیلتر کاغذی معمولی
۱۰	۰/۰۸	تیمار با فیلتر ۰/۴۵ μm
۱/۵۲	۰/۰۱	تیمار با فیلتر C ₁₈

- اثر افزودن پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ در مقادیر مختلف و در ساعت های مختلف به محیط کشت تولید زانتان:

در آزمایش های انجام گرفته در این بخش، اثر افزودن پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ به محیط کشت تولید زانتان، بر روی مقدار میانگین ویسکوزیته، محصول خام، زانتان خالص و بیومس بررسی شد. برای بررسی این که تا چه حد می توان پسماند را جایگزین کرد و این که افزودن پسماند در زمان اولیه تخمیر، طی فاز لگاریتمی (ساعت ۳۰) و طی فاز رکود (ساعت ۵۰)، چه تأثیری بر میزان تولید زانتان دارد، حالت های مختلف در نظر گرفته شد.

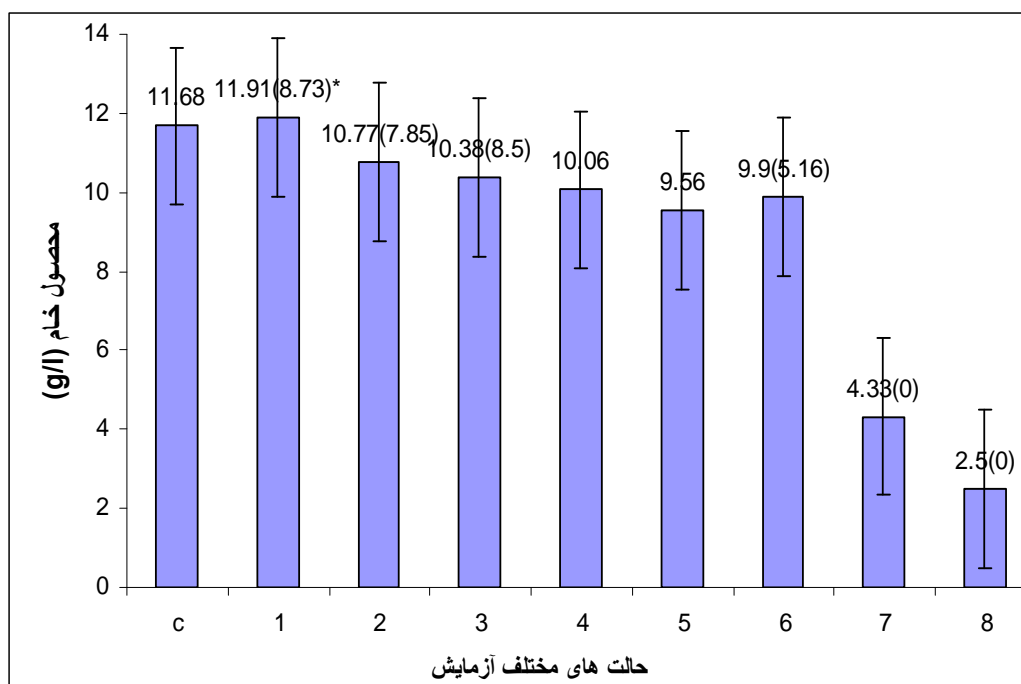
همان گونه که در نمودار ۱ ملاحظه می شود، در حالت شماره ۱، یعنی افزودن پسماند با تراکم حجمی ۲۵٪ در ساعت اولیه موجب افزایش تولید محصول خام نسبت به کنترل مثبت شد به عبارتی دیگر، موجب افزایش ۱۰۷٪ مقدار محصول خام نسبت به کنترل منفی می شود که در آن از پسماند بدون تیمار استفاده شده بود. در حالت شماره ۸ که از ۱۰۰٪ حجمی پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ استفاده شده است، ۲/۵ g/L محصول خام تولید شده در حالی که در کنترل منفی این حالت، که به محیط کشت ۱۰۰٪ حجمی پسماند تیمار نشده، اضافه شده بود، محصول خام تولید نشد.

جدول ۱- نتایج آنالیز آلی و معدنی پسماند

C	۳/۶ g/L
H	۱۰۳/۴ g/L
N	۰/۴ g/L
S	۰/۶ g/L
Mg	۰/۰۴ mg/L
P	۱۶/۵۴ mg/L
متانول	۶۴g/L
BOD ₅	۸۹۰۰mg/L
COD	۱۲۸۰۰mg/L
قند	۱۰۰mg/L
پروتئین	۳/۷۵ g/L
pH	۹/۶ - ۹/۹

از طرفی همان طور که مشاهده می شود به علت بالا بودن مقادیر BOD، COD و فسفر، رها کردن این پسماند در محیط زیست، کاری نادرست است و در صورت راه یافتن این پسماند به آب های سطحی، منجر به غنی شدن (Eutrication) آب ها و رشد بحرانی جلبک ها و به خطر انداختن حیات آبزیان می شود. BOD بالا نشان دهنده وجود مقادیر زیاد از آلاینده های آلی در پسماند است که بخش عمده آن را متابولیت های ثانویه تخمیر، سوبستراهای متابولیز نشده و پلیمر (زانتان) باقی مانده در پسماند تشکیل می دهد.

بعد از فیلتراسیون با فیلتر C₁₈، محلول کاملاً شفاف با رنگ زرد کم رنگ به دست آمد و همان طور که در جدول ۲ ملاحظه می شود، نمونه تیمار شده با فیلتر C₁₈ کم ترین کدورت را دارد.



نمودار ۱- اثر اضافه کردن پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ در زمان ها و مقادیر مختلف

بر روی مقدار میانگین محصول خام.

*: در بعضی از حالت ها، پسماند بدون تیمار به عنوان کنترل منفی مورد استفاده قرار گرفت که نتیجه آن داخل پرانتز نشان داده شده است.

c: کنترل مثبت که در آن از پسماند استفاده نشد.

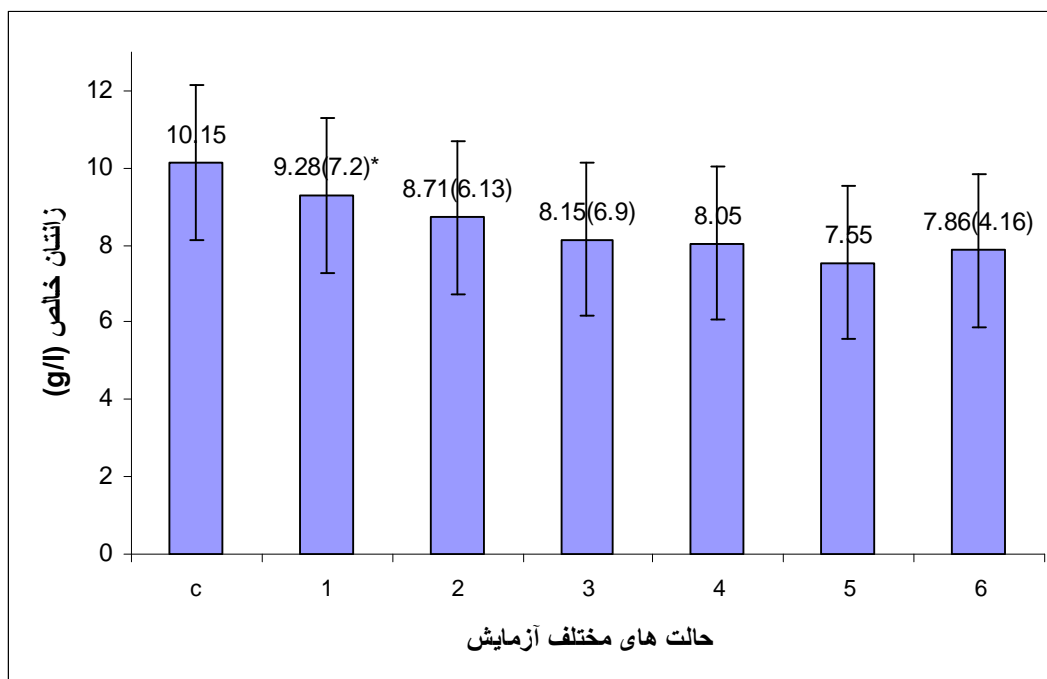
های منفی هر حالت بر روی نمودار در داخل پرانتز نمایش داده شده است.

همان طور که در نمودار ۲ ملاحظه می شود، هر چند استفاده از تراکم ۲۵٪ حجمی پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ در ساعت اولیه (حالت شماره ۱) موجب افزایش ۷۰٪ زانتان خالص نسبت به کنترل منفی شد، ولی افزایش تراکم پسماند در محیط کشت، باعث کاهش تولید زانتان گردیده است.

برای شرح حالت های مختلف آزمایش به بخش مواد و روش ها رجوع شود.

پس استفاده از فیلتر C₁₈ می تواند کیفیت پسماند را بهبود بخشد، ولی با وجود این، افزایش تراکم پسماند در محیط کشت، موجب کاهش تولید محصول خام شد.

آنالیز آماری با نرم افزار (Anova I way) Minitab، نشان داد که افزودن پسماند بر روی مقدار میانگین محصول خام حالت های شماره ۷ و ۸ و کنترل منفی حالت شماره ۶ اثر منفی دارد و بر روی سایر حالت های آزمایش اثر ندارد. کنترل-



نمودار ۲- اثر اضافه کردن پسماند تیمار شده با فیلتر C_{18} در زمان ها و مقادیر مختلف بر روی مقدار میانگین زانتان خالص.

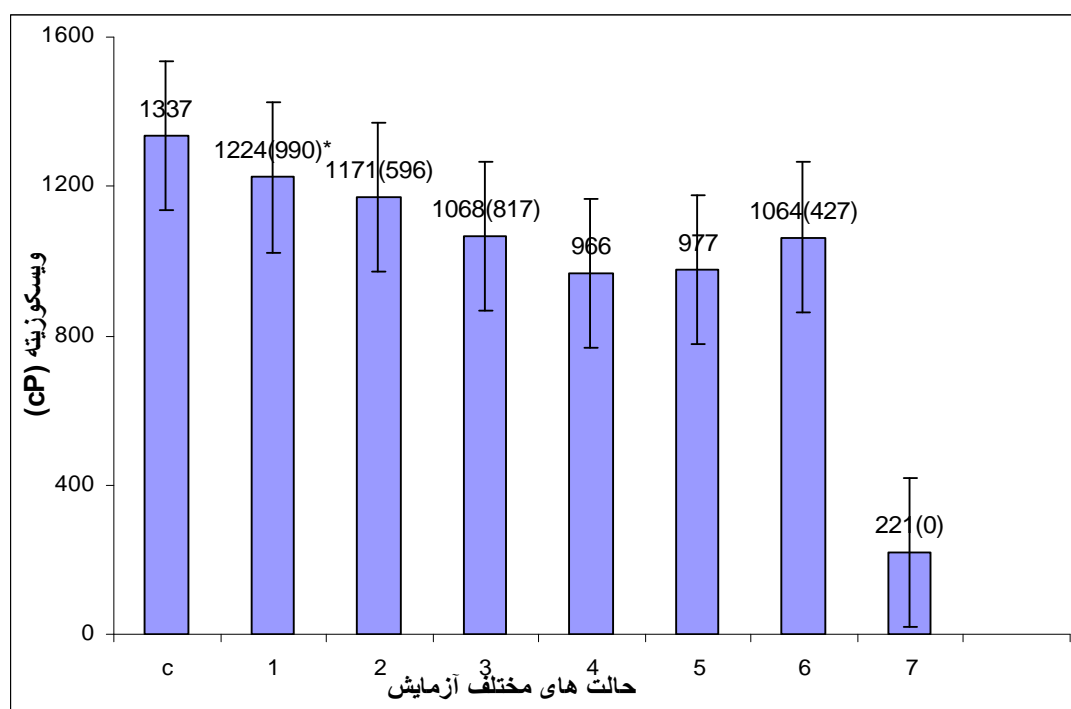
*: در بعضی از حالت ها، پسماند بدون تیمار به عنوان کنترل منفی مورد استفاده قرار گرفت که نتیجه آن داخل پرانتز نشان داده شده است.

c: کنترل مثبت که در آن از پسماند استفاده نشد.

برای شرح حالت های مختلف آزمایش به بخش مواد و روش ها رجوع شود.

منفی، موجب تغییر محسوس در میزان ویسکوزیته محیط کشت شده است.

همان طور که در نمودار ۳ ملاحظه می شود، استفاده از پسماند تیمار شده با فیلتر C_{18} درمقایسه با کنترل های



نمودار ۳- اثر اضافه کردن پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ در زمان ها و مقادیر مختلف بر روی مقدار میانگین ویسکوزیته.

* : در بعضی از حالت ها، پسماند بدون تیمار به عنوان کنترل منفی مورد استفاده قرار گرفت که نتیجه آن داخل پرانتز نشان داده شده است.

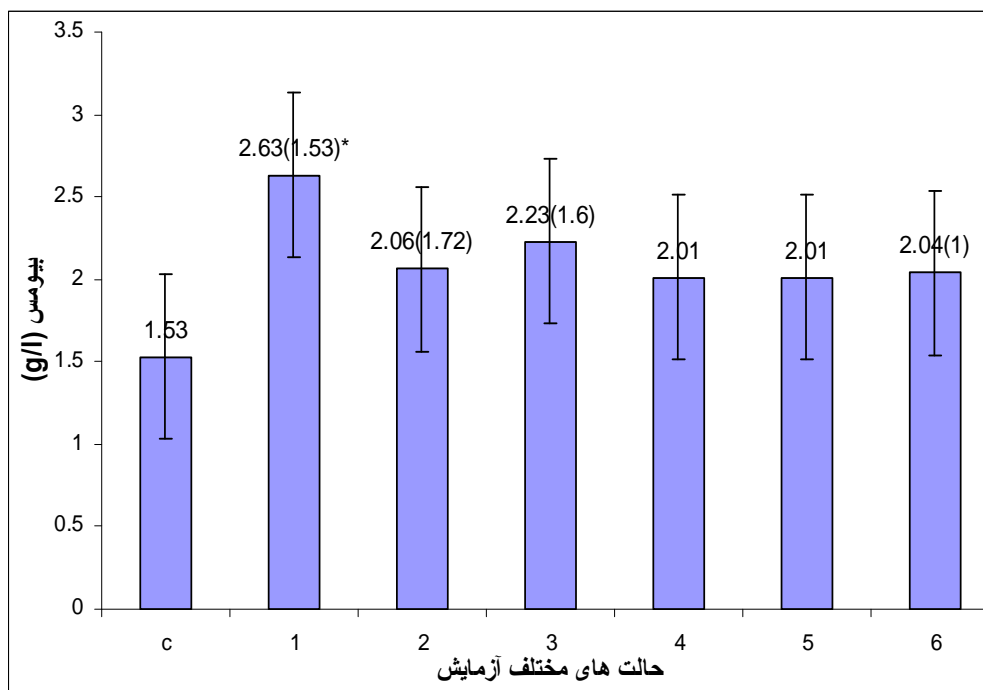
c : کنترل مثبت که در آن از پسماند استفاده نشد.

برای شرح حالت های مختلف آزمایش به بخش مواد و روش ها رجوع شود.

شماره ۱)، موجب افزایش قابل ملاحظه بیومس (۲/۶۳ g/L) نسبت به کنترل مثبت و کنترل منفی (۱/۵۳g/L)، شده است. در دیگر حالت ها نیز، افزودن پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈، اثر خوبی در رشد بیومس داشته است و این نشان دهنده این مطلب است که پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ برای رشد بیومس مناسب است.

در بهترین حالت، یعنی تراکم ۲۵٪ حجمی پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ در ساعت اولیه (حالت شماره ۱)، موجب افزایش ۶۷٪ ویسکوزیته نسبت به کنترل منفی شد. آنالیز آماری با نرم افزار (Minitab (Anova I way)، نشان داد که افزودن پسماند بر روی مقدار ویسکوزیته حالت شماره ۷ و بر روی کنترل های منفی حالت های شماره ۲، ۳ و ۶ اثر منفی دارد.

در نمودار ۴ مشاهده می شود که افزودن تراکم ۲۵٪ حجمی پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ در ساعت اولیه (حالت



نمودار ۴- اثر اضافه کردن پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ در زمان ها و مقادیر مختلف بر روی مقدار میانگین نیومس.

* : در بعضی از حالت ها، پسماند بدون تیمار به عنوان کنترل منفی مورد استفاده قرار گرفت که نتیجه آن داخل پرانتز نشان داده شده است.

C : کنترل مثبت که در آن از پسماند استفاده نشد.

برای شرح حالت های مختلف آزمایش به بخش مواد و روش ها رجوع شود.

بحث

واحد های تولید کننده زانتان از جمله صنایعی می باشند که از مقادیر زیاد آب استفاده می کنند و حجم انبوهی پساب تولید می نمایند. جدا از محتوای آلی بالای پسماند که BOD آن ۸۹۰۰ mg/L و COD آن ۱۲۸۰۰ mg/L است، این پسماند حاوی نوترینت هایی به فرم نیترژن (۴۰۰ mg/L)، فسفر (۱۶/۵۴ mg/L) و گوگرد (۶۰۰ mg/L) است که در صورت تخلیه به محیط زیست تعادل اکولوژیکی را به هم می زند. پس لازم است که این واحدها پساب هایشان را تیمار و مجدداً مصرف کنند.

در این تحقیق، در صورت استفاده از الکل متانول برای استخراج زانتان در شرایط بهینه مصرف، یعنی نسبت ۲/۲ : ۱ حجم الکل به حجم برات تخمیر، به ازای تولید هر یک کیلوگرم زانتان، ۱۶۰ لیتر پساب تولید می شود که این رقم فقط مربوط به پساب ناشی از فرایند تخمیر و استخراج زانتان است و دیگر پساب های جانبی تولید شده در آن لحاظ نشده است. منظور از پساب های جانبی، آب استفاده شده برای شستشوی فرمانتور و دیگر تجهیزات، آب استفاده شده برای خنک کردن فرمانتور و آب مصرف شده برای سیستم های سرمایش و گرمایش واحد تولید کننده زانتان است.

با تقطیر پساب ناشی از فرایند تخمیر و استخراج، می توان از الکل بازیافتی دوباره در چرخه تولید زانتان استفاده کرد. ولی پسماند باقی مانده، یعنی ۵۰ لیتر پسماند به ازای هر کیلوگرم زانتان، معادل ۴/۵ کیلوگرم BOD است که قبل از تخلیه به محیط، لازم است فراوری شود.

در این تحقیق، در صورت استفاده از الکل متانول برای استخراج زانتان در شرایط بهینه مصرف، یعنی نسبت ۲/۲ : ۱ حجم الکل به حجم برات تخمیر، به ازای تولید هر یک

کربن در دسترس پسماند، روش های زیستی چه هوازی و چه بی‌هوازی برای تیمار پسماند ناشی از تولید زانتان مناسب نیست و مستلزم افزودن مقادیر زیاد مکمل های غذایی قندی به پسماند است که در نتیجه این امر پسایی تولید می‌شود که مضرات محیط زیستی آن به مراتب از پساب اولیه بیشتر است. همچنین در اغلب فرایندهای میکروبی به پسماند رقیق شده برای بهینه فعالیت نیاز است. روش های تیمار فیزیکوشیمیایی مثل فرایندهای جذب، انعقاد و لخته سازی (کوآگولاسیون/فلوکولاسیون) و اکسیداسیون نیز در این زمینه قبلاً مطالعه شده است اما هزینه‌های مواد شیمیایی به همراه مشکلات مربوط به تولید لجن و از بین بردن یا بازیافت آن از موانع مربوطه است. بنابراین مطالعات و تحقیقات بیشتری برای یافتن فیلترهای ارزان قیمت لازم است که در استفاده از فیلترها، لجن تولید نمی‌شود و موجب کاهش قابل توجه محتوای بار آلی پسماند و در نتیجه کاهش مقدار BOD و COD می‌شود (۱۴).

برای این منظور در این تحقیق برای تیمار پسماند و کاهش محتوای آلی آن از فیلتر C₁₈ استفاده شد و از هر دو نوع پسماند تیمار شده و تیمار نشده در محیط تولید زانتان استفاده گردید.

نتایج بررسی نشان داد که پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ اثرات بهتری نسبت به پسماند تیمار نشده و همچنین پسماند تیمار شده با سایر روش ها دارد و فیلتر C₁₈ یک گزینه مناسب برای حذف آلاینده های آلی پسماند است. در بهترین حالت از آزمایش‌های انجام شده، یعنی اضافه کردن ۷/۷ ۲۵٪ پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ در ساعت اولیه به محیط تولید، باعث افزایش ۲٪ محصول خام نسبت به کنترل مثبت (محیطی که به آن پسماند اضافه نشده بود) و افزایش ۱۰۷٪ محصول خام در مقایسه با کنترل منفی (محیطی که به آن پسماند تیمار نشده اضافه شده بود) و افزایش ۷۰٪ زانتان خالص و ۶۷٪ ویسکوزیته نسبت به کنترل منفی شد. نمودارهای ۱، ۲، ۳ و ۴.

این پسماند حاوی مواد غذایی محلول غیر قابل تخمیر، متابولیت های تولید شده از تخمیر قبلی، مقدار کمی الکل و مواد حاصل از لیز سلول های *X. campestris* است. رنگ زرد این پسماند نیز به علت وجود رنگدانه های زانتومونادین می باشد.

از جمله اقدامات مورد نظر در این تحقیق، بررسی امکان رشد *X. campestris* در محیط پسماند و در نتیجه مصرف مجدد این پسماند در دور جدید تخمیر بود. به همین سبب این پسماند از لحاظ عناصر و ترکیبات تشکیل دهنده آن آنالیز شد.

نتایج آنالیزها (جدول ۱) نشان داد که هرچند پسماند محیطی غنی از عناصر و مواد ارزشمند است، اما میزان قند موجود در پسماند بسیار ناچیز و قابل چشم‌پوشی است و در مقابل محتوای پروتئینی پسماند بسیار بالاست. یعنی نسبت منبع کربن به منبع نیتروژن (C/N) تقریباً صفر است و برای رشد *X. campestris* مناسب نیست و باکتری نمی‌تواند از پسماند به عنوان تنها منبع کربن و انرژی استفاده کند. اما می‌توان از پسماند به جای آب مصرفی در محیط تولید زانتان استفاده کرد که موجب تأمین آب بیشتر و حفاظت محیط زیست از آلودگی می‌شود.

برگشت به وسیله بسیاری از محققان در سطوح مختلف کاربرد پسماند مورد تحقیق قرار گرفته است که مصرف مجدد پسماند به عنوان آب رقیق کننده مورد استفاده قرار گرفته است. هر چند پسماند برگشتی، لزوماً دارای مقادیر زیاد از نوترینت های ضروری برای رشد میکروارگانیسم نیست و اغلب حاوی مقادیر مهارکننده از اسیدهای آلی باکتریایی، مولکول های غیر قابل تخمیر با وزن مولکولی کم و یون‌هایی است که ممکن است اثر سمی داشته باشند، بنابراین در برگشت پسماند می‌بایستی با احتیاط عمل کرد (۳ و ۵).

در این تحقیق، برگشت پسماند تیمار نشده به دور جدید تخمیر، موجب کاهش تولید زانتان شد. بنابراین روش های تیمار زیستی، شیمیایی و فیزیکی متنوعی برای تیمار این پسماند مطالعه شده است. به علت پایین بودن محتوای قندی و

تشکر و قدردانی

بر خود لازم می دانیم که از مسئول و کارشناسان محترم آزمایشگاه جابر بن حیان سازمان انرژی اتمی ایران، جناب آقایان مهندس بهزاد و مهندس بوبری منجی و سرکار خانم ها مهندس پژمان زاد و مهندس غفاری و سرکار خانم مهندس صدیقه بزاز زاده کارشناس محترم آزمایشگاه دانشگاه صنعتی خواجه نصیر که در سنجش مواد آلی و معدنی پسماند ما را یاری کردند، تشکر نمائیم.

منابع

1. Yoo, S. D., Harcum, S. W., (1999). "Xanthan gum production from waste sugar beet pulp". *Bioresource Technol.* 70: 105-109.
2. Garcia-Ochoa, F., Santos, V.E., Casas, J.A., (2000). "Xanthan gum: production, recovery, and properties". *Biotechnol Advances* 18:549-579.
3. Ingledew, W. M., (2005). "Improvements in Alcohol Technology through Advancements in Fermentation Technology". *Getreidetechnologie*, 59(5): 308-311.
4. Maiorella, B. L., (1985). "Ethanol". In: Moo – Young, editor, *Comprehensive biotechnology*, Oxford: Perg, 3: 861-903.
5. Chin, P. M., Ingledew, W. M., (1993). "Effect of recycled laboratory backset on fermentation of wheat mashes". *J. Agr. Food Chem.* 41: 1158-1163.
6. Wall, J. S., Bothast, R. J., Logoda, A.A., (1983). "Effecte of recycling distillers' solubles on alcohol and feed production from corn fermentation". *J. Agric. Food Chem.* 31: 770-775.
7. Leiper, K. A., Schlee, C., Tebble, I., Stewart, G., (2006). "The Fermentation of Beet Sugar Syrup to Produce Bioethanol". *J. Inst. Brew.* 112(2):122-133.

ساختار فشرده و متراکم دیسک های C₁₈ منجر به جداسازی خوب مواد آلی هیدروفوبیک از پساب می شود. کاربرد فیلترهای C₁₈ به مراتب تأثیر روش SPE را بهبود بخشیده است و قیمت مناسب دیسک های C₁₈، کاربرد این دیسک ها را در روش SPE خوش آیند و جذاب نموده است (۱۵).

استفاده از فیلترهای C₁₈ یکی از راه های مناسب برای جدا کردن میکروآلاینده های آلی موجود در آب و فاضلاب است. با این روش بسیاری از ترکیبات از قبیل فنل ها، اسیدهای کربوکسیلیک، سولفونات ها و آمین های آروماتیک، مواد دارویی، سورفکتانت ها، رنگ ها و حشره کش های موجود در آب یا پساب شناسایی می شوند (۱۰ و ۱۶).

در تحقیقی تأثیر فیلترهای C₁₈ در حذف آلاینده ها از پساب تصفیه شده شهری و آب مقطر ارزیابی شد که با بیشتر بودن نسبی بازده این فیلترها در حذف آلاینده ها از آب مقطر، چنین به نظر می رسد که کارایی فیلتر C₁₈ تحت تأثیر کربن های آلی محلول در پساب کاهش می یابد (۱۵).

همان طور که در جدول ۲ نیز ملاحظه می شود، پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ کمترین کدورت را دارد. نکته قابل توجه در نمودار ۴، مربوط به اثر اضافه کردن پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ در زمان ها و مقادیر مختلف بر روی مقدار میانگین بیومس، این است که افزودن پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈، در تمام حالات موجب افزایش قابل ملاحظه بیومس در مقایسه با کنترل مثبت می شود و علت آن است که یک غلظت نسبتاً بالای نیتروژن اولیه و در نتیجه نسبت پائین C/N برای رشد سریع سلولی مورد نیاز است که این غلظت متعادل نیتروژن در پسماند تیمار شده با فیلتر C₁₈ وجود دارد. (۱۷)

در انتها می توان گفت که با مصرف مناسب آب و استفاده مجدد از پساب می توان در مصرف آب صرفه جویی کرد هرچند راه-حل های جامع و اقتصادی تری برای فائق آمدن صنایع بر مشکلات کمبود آب و عدم تخلیه پساب ها به محیط زیست لازم است.

- protein utilizing the principle of protein – dye binding". *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.
14. Tewari, P. K., Batra, V. S., Balakrishnan, M., (2007). "Water management initiatives in sugarcane molasses based distilleries in India". *Resources, Conservation and Recycling* 52: 351-367.
 15. Zeng, E. Y., Khan, A. R., (1995). "Extraction of municipal wastewater effluent using 90-mm C-18 bonded disks". 17th International Symposium on Capillary Chromatography and Electrophoresis, Wintergreen, Virginia, USA, May 7-11, 1995.
 16. Loos, R., Hanke, G., Eisenreich, S.J., (2003). "Multi-component analysis of polar water pollutants using sequential solid-phase extraction followed by LC-ESI-MS". *J. Environ. Monit.*, 5: 384-394.
 17. Lo, Y. M., Yang, S.T., Min, D., (1997). "Effects of yeast extract and glucose on xanthan production and cell growth in batch culture of *Xanthomonas campestris*". *Appl Microbiol Biotechnol* 47: 689-694.
 8. Beney, P. J., Breuer, G. M., (1999). "Review, Evaluation, and Application of Solid Phase Extraction Methods". *J UHL*, 35(6): 1-5.
 9. Pujadas, E., Diaz – ferrero, J., Martir, R., Broto-Puig, F., (2001). "Application of the new C₁₈ speedisksTM to the analysis of polychlorinated dibenzo – p – dioxins and dibenzofurans in water and effluent samples". *Chemosphere*, 43:449 – 454.
 10. Tolgyessy, P., Liska, I., (1999). "Study of applicability of various solid-phase extraction materials for sample handling in screening analysis of organic micropollutants in water". *J Chromatography A*, 657:247-254.
 11. Chaplin, M. F., Kennedy, J. F., (1986). *Carbohydrate analysis; A practical approach*. IRL Washington DC.
 12. Skoog, D. A., (1985). *Principles of instrumental analysis*. Third edition. Saunders college Publishing. ISBN: 0-03-001229-5.
 13. Bradford, M., (1976). "A rapid and sensitive method for the quantities of