مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی
دوره دوم، شماره نهم، زمستان ۱۳۹۱

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

تولید بیوسورفکتانت رامنولیپیدی توسط *سودوموناس آئروژینوزا* MR01 از ضایعات فرآوری روغن گیاهی

طیبه باقری لطف آباد[1*]، مریم پرتوی[2]، منوچهر بهمئی[3]

[1] *استادیار، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران.*
[2] *کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، گروه میکروبیولوژی، کرج، ایران.*
[3] *استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، دانشکده شیمی، تهران، ایران.*

چکیده

سابقه و هدف: بیوسورفکتانت ها گروهی از متابولیت های ثانویه هستند که توسط طیفی از میکروارگانیسم ها سنتز می شوند و دارای ویژگی های فعالیت سطحی، نظیر کاهش کشش سطحی و کشش بین سطوح می باشند. گرایش به استفاده از بیوسورفکتانت ها به جهت برخورداری از مزایایی نظیر سمیت پایین، زیست تخریب پذیری و مؤثر بودن آن ها در محدوده وسیعی از pH و دما، افزایش چشمگیری داشته است. عدم توجیه **اقتصادی** تولید بیوسورفکتانت ها در مقیاس بالا به دلایل متعدد از جمله مصرف سوبستراهای گران قیمت برای تولید آن هاست. **استراتژی پیشنهادی** برای حل این مسئله، **استفاده** از سوبستراهای ارزان قیمتی نظیر پسماندهای صنعتی لیپیدی است. هدف از انجام این تحقیق، ارزیابی مصرف مواد پسماند کارخانه فرآوری روغن، به عنوان سوبستراهای تولید رامنولیپید از سویه بومی *سودوموناس آئروژینوزا* MR01 و **تبدیل** مواد پسماند به **موادی** با ارزش **افزوده** بالا می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه اسیدهای چرب موجود در مواد پسماند فرآوری روغن و مقدار کل مواد آلی موجود در آنها به ترتیب با استفاده از کروماتوگرافی گاز و اندازه گیری اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (COD) تعیین گردید. امولسیون کنندگی محصول **تولیدی** با استفاده از شاخص E24 اندازه گیری شد.

یافته ها: اندازه گیری COD مواد پسماند **مقادیر** بالایی در حدود ۲,۰۰۰,۰۰۰ را نشان داد و امولسیون کنندگی بطور متوسط ۴۰٪ بدست آمد.

نتیجه گیری: در این تحقیق امولسیون کنندگی قابل توجه بیوسورفکتانت **رامنولیپیدی** از مواد پسماند با COD بالا، به عنوان یک ماده زیستی سبز نوید کاهش معضل تجمع پسماند و **آلاینده** های آبگریز روغنی را به همراه دارد.

کلمات کلیدی: ضایعات، روغن گیاهی، بیوسورفکتانت، امولسیون **کنندگی**.

مقدمه

بسیاری از میکروارگانیسم ها مواد فعال سطحی(بیوسورفکتانت) خارج سلولی یا متصل به غشاء سلولی تولید میکنند. بیوسورفکتانت ها، ترکیبات آلی شامل **گلیکولیپیدها، لیپوپپتیدها، اسیدهای چرب، فسفولیپیدها، لیپیدهای خنثی** و لیپوپلی **ساکاریدها** هستند (۳۲). به طور کلی بیوسورفکتانت ها به جهت توانایی هایی نظیر کاهش کشش سطحی و کشش بین سطحی یا قدرت امولسیون کنندگی، دارای پتانسیل **استفاده** در حوزه های مختلفی اعم از صنایع شیمیایی، صنعت نفت و پتروشیمی، پلاستیک ها و مواد کامپوزیتی، شوینده ها (**دترجنت** ها) و پاک **کننده** ها، محصولات آرایشی، صنعت نساجی، ساخت و **دباغی** چرم و خز، صنعت رنگ و لاک الکل و سایر محصولات پوشش **دهنده**، کاغذ و سایر محصولات سلولوزی، صنعت معدن، صنعت فرآیند فلزات، محافظت گیاه و کنترل آفات، غذا و بسته بندی غذایی، مواد دارویی، تحقیقات پزشکی و بیوشیمیایی و نیز سایر حوزه های تکنولوژی پیشرفته، هستند (۱۹ و ۲۹) . اما تولید بیوسورفکتانت ها با وجود **کاربردهای** فراوانی که در صنایع مختلف دارند و نیز برخورداری از مزایایی نظیرسازگاری با

آدرس نویسنده مسئول: پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، اتوبان تهران-کرج،کیلومتر۱۵، شهرک علم و فناوری پژوهش، بلوار پژوهش
Email: bagheril@nigeb.ac.ir
تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۰۱/۲۳
تاریخ پذیرش: ۹۱/۰۸/۳۰

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.3.9.9.3]

طبیعت، قابلیت تجزیه پذیری به صورت طبیعی، سمیّت پایین، عملکرد اختصاصی، فعالیت بالا تحت شرایط سخت دما، فشار و اسمولاریتی بالا، کف کنندگی بالا (۶ و ۱۰)، هنوز به میزان انبوه و گسترده و صنعتی در نیامده است. عمده ترین عامل بازدارنده، بحث اقتصادی موضوع است، چراکه هم اکنون بالا بودن هزینه ها و قیمت تمام شده برای تولید این محصول در حدی است که در بسیاری از صنایع بزرگ نظیر نفت، شیمی و پتروشیمی، جایگزین کردن بیوسورفکتانت بجای سورفکتانت ها و امولسیفایرهای سنتزی مورد استفاده کنونی، توجیه اقتصادی ندارد. از این رو یکی از استراتژی هایی که انتظار می رود این مشکل را به نوعی تخفیف دهد، استفاده از سوبستراهای تجدیدپذیر طبیعی، مواد پسماند و ضایعات صنایعی است که قابل استفاده برای تولید بیوسورفکتانت باشند (۳۲ و ۱۴). مصرف مواد ارزان قیمت تجدیدپذیر طبیعی و یا مواد پسماند کشاورزی و صنایع، و یا پسآب های صنعتی یا شهری به عنوان سوبستراهای جایگزین، علاوه بر کمک به عدم تجمع این مواد در طبیعت، به تولید ماده ای با ارزش افزوده نیز کمک می نماید. این نکته مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است (۱۴). از جمله مواد قابل تجدید که به عنوان سوبسترا برای تولید بیوسورفکتانت مورد استفاده قرار گرفته اند، می توان به مواردی نظیر روغن های گیاهی، محصولات فرعی یا پسماندهای صنایع روغن کشی یا فرآوری روغن، پسماند روغن سرخ کردن‌ی رستوران ها، پسماند صنایع لبنی (۹-۷) و تولید قند (۲و ۲۶)، پسماند لیگنوسلولوزی، سوبستراهای غنی از نشاسته نظیر آرد کاساوا و پسماند فرآیند سیب زمینی (۲۰، ۲۵-۲۲، ۳۰ و ۳۱) و سایر منابع غیرمتداول سوبسترا مانند کامپوست (۱۶) و پساب حاوی روغن ماهی (۱۲) اشاره داشت. در میان سوبستراهای مختلف برای تولید بیوسورفکتانت، روغن های گیاهی بیش از سایرین مورد توجه قرار گرفته است. روغن های گیاهی، منبع کربن لیپیدی هستند که غالبا متشکل از اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع با زنجیر ۱۶ تا ۱۸ کربن میباشند. محققین طیفی از روغن های گیاهی، اعم از روغن کانولا، ذرت، آفتابگردان، گلرنگ، زیتون، کلزا، دانه انگور، نخل، نارگیل، ماهی و سویا را برای تولید بیوسورفکتانت مورد استفاده قرار داده اند (۱۴، ۲۷، ۲۸ و ۳۳). تولید روغن دنیا در سال در حدود ۲/۵ تا ۳ میلیون تن است. صنعت روغن، به میزان زیادی پسماند ایجاد می کند و لذا دفع آن ها یک مشکل جدی است. روغن های خام یا تصفیه نشده ای که از دانه های روغن استخراج می شود، عموما غنی از اسیدهای چرب، مونو، دی و تری گلیسریدها، فسفاتیدها، پیگمان ها، توکوفرول ها، فلزات جزئی، گلیکولیپیدها، آفت کش ها، صمغ ها و مواد چسبنده و لزج است. این پسماند های کشاورزی تحت تأثیر فعالیت های کشاوزی و صنعتی و براساس مناطق و کشورهای خاص هستند. هزینه بالای دفع این مواد پسماند با استفاده از روش های متداول، معضل و نگرانی عمده ای برای تولید کنندگان این پسماندها و مسئولین شهرداری است. محتوای بالای چربی، روغن و سایر مواد مغذی درون این مواد پسماند، آن ها را به عنوان مواد اولیه جذاب و ارزان قیمیت به صنایع درگیر در تولید مواد ثانویه مفید، عرضه می کند. موخِرجی[1] و همکارانش در سال ۲۰۰۶ در مروری بر کارهای سایر محققین جذابیت استفاده از مواد پسماند روغنی و یا استفاده از آن ها در ترکیب با روغن ها را به منظور کاهش قیمت تولید بیوسورفکتانت ها، گزارش کرده اند (۱۸). انبوه زیادی از تحقیقات روی تولید بیوسورفکتانت با استفاده از سوبستراهای مربوط به صنایع گیاهی وجود دارد (۳و ۱۴). در این میان، تولید رامنولیپید با راندمان های مختلف از سویه های متفاوت *سودوموناس آئروژینوزا* با استفاده از پسآب روغن کشی زیتون، پسماند روغن سرخ کردنی آفتابگردان و زیتون، خلط صابونی روغن سویا و آفتابگردان و نیز کیک روغن بادام زمینی توسط محققین متعددی گزارش شده است (۱، ۴، ۵، ۱۱، ۱۵، ۲۱ و ۳۲). مسئله اصلی استفاده از سوبستراهای جایگزین به عنوان محیط کشت عبارتست از پیدا کردن یک پسماند با موازنه صحیح مواد مغذی که اجازه رشد سلولی و ذخیره محصول را می دهد (۳۲). با توجه به نتایج موفقیت آمیزی که در کار سایر محققین نسبت به تولید بیوسورفکتانت با استفاده از ضایعات روغنی انجام گرفته، در این تحقیق امکان تولید بیوسورفکتانت توسط سویه *سودوموناس آئروژینوزا* MR۰۱ با استفاده از ضایعات روغنی کارخانه فرآوری روغن مورد بررسی قرار گرفت.

1-Mukherjee

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.3.9.9.3]

مواد و روش ها

سویه میکروبی و شرایط کشت

باکتری مورد مطالعه سویه *سودوموناس آئروژینوزا* MR۰۱ جداسازی شده از نفت خام مناطق نفت خیز جنوب ایران است، که مولد بیوسورفکتانت می باشد (۱۳). کلیه مواد شیمیایی و ترکیبات لازم برای تهیه محیط های کشت به کار گرفته شده از شرکت مرک (Merck) تهیه شد. کشت اولیه باکتری لیوفیلیزه روی محیط کشت نوترینت براث و نوترینت آگار انجام پذیرفت. محیط کشت مناسب برای رشد باکتری و تولید بیوسورفکتانت به ترتیب شامل ترکیبات زیر بر حسب گرم به ازای هرلیتر بود: روغن سویا یا ماده پسماند (۸٪-۲)، نیترات سدیم (۳ g/l)، فسفات دی هیدروژن پتاسیم (۰/۲۵ g/l)، سولفات منیزیم ۷ آبه (۰/۲۵ g/l)، عصاره مخمر (۱ g/l). مواد پسماند اعم از خلط صابونی، آب حاوی اسید های چرب (acid oil) و محصول تقطیر مرحله بوگیری روغن از کارخانه فرآوری روغن صافولا بهشهر تهیه گردید. مقدار اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (COD) با استفاده از روش هضم دی کرومات پتاسیم در سیستم رفلاکس تعیین شد. اساس این روش بر این امر استوار است که غالب مواد آلی بوسیله مخلوط در حال جوش کرومیک و سولفوریک اسید قابل اکسید شدن هستند. نمونه حاوی ماده آلی در محلول اسید قوی در حضور مقدار اضافی از دی کرومات پتاسیم اکسید می شود. بعد از هضم، مقدار دی کرومات پتاسیم احیاء نشده با استفاده از آمونیوم فروس سولفات تیتر می شود تا مقدار دی کرومات پتاسیم مصرف شده، مواد آلی قابل اکسید شدن برحسب معادل اکسیژن محاسبه شود. این آنالیز با استفاده از تکنیک ارائه شده توسط مورِ و همکارانش در سال ۱۹۴۹ انجام گرفت (۱۷). اسید های چرب موجود در ماده پسماند با استفاده از کروماتوگرافی گاز تعیین گردید. بدین منظور شناسایی و تعیین مقدار اسیدهای چرب موجود در روغن ها با سیستم گاز کروماتوگرافی مجهز به دتکتور یونی شعله‌ای و ستون شیشه‌ای مویین به طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲ میکرومتر و قطر خارجی ۰/۲۵ میکرومتر انجام شد. اسپلیت دستگاه ۱ به ۳۰ تنظیم گردید. دمای تزریق و دتکتور به ترتیب ۲۵۰ °C و ۳۰۰ °C و دمای Oven به صورت زمان بندی شده برنامه ریزی شد، بدین ترتیب که ابتدا ۱۱ دقیقه در دمای ۱۷۷ °C، و با شدت ۷ °C در دقیقه به دمای ۲۳۵ °C رسید و ۱۰ دقیقه در دمای ۲۳۵ °C نگه داشته شد. گاز هلیم با خلوص ۹۹ درصد و با دبی ۱ میلی‌لیتر در دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده گردید. ابتدا کشت ۲۴ ساعته از باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* MR۰۱ در ۳۰ °C تهیه شد، سپس سوسپانسیون باکتریایی با OD_{600}=۱ به میزان ۲ درصد حجمی به محیط تولید تلقیح گردید و در شیکر انکوباتور با دمای ۳۰ °C و دور ۲۰۰ rpm گرم خانه گذاری شد. پس از ۱۰ روز نمونه برداری انجام گرفت. برای تعیین غلظت بیوسورفکتانت تولید شده در محیط کشت، بیوسورفکتانت با استفاده از روش اسیدی کردن توأم با استخراج حلال از محیط کشت جداسازی گردید (۱۳)؛ بدین صورت که نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ (۷۴۴۰ g×) شد، مایع رویی جمع آوری و با استفاده از اسید هیدروکلریک تا pH= ۲ اسیدی و به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار داده شد. رسوبات حاصل با استفاده از سانتریفیوژ (۱۸۰۰۰×g) جمع آوری و عمل استخراج چندین بار با استفاده از اتیل استات در دمای اتاق انجام گرفت. سرانجام، حلال موجود در محصول با استفاده از تبخیر کننده خلا حذف شد و بیوسورفکتانت خام به صورت یک ماده عسل مانند با رنگ قهوه ای به دست آمد. شاخص امولسیون کنندگی (E۲۴) به روش باقری و همکارانش (۱۳)، به این صورت انجام گرفت که ۲ ml از محلول ۱ گرم بر لیتر یکی از سورفکتانت های ترایتون ایکس-۱۰۰، سدیم دودسیل سولفات و بیوسورفکتانت MR۰۱ همراه با ۲ ml از یکی از ترکیبات روغنی و آبگریز مانند هگزان، تولوئن، زایلن، ایزوبوتانول، دیزل، نفت خام، روغن سویا و روغن آفتابگردان در یک لوله آزمایش مخلوط و به مدت ۲ دقیقه شدیدا ورتکس گردید، سپس ۲۴ ساعت به حالت ساکن قرار داده شد. آنگاه شاخص امولسیون کنندگی، E۲۴، از تقسیم مقدار ارتفاع بخش امولسیونی بر مقدار ارتفاع کل مخلوط ضربدر ۱۰۰محاسبه گردید.

یافته ها

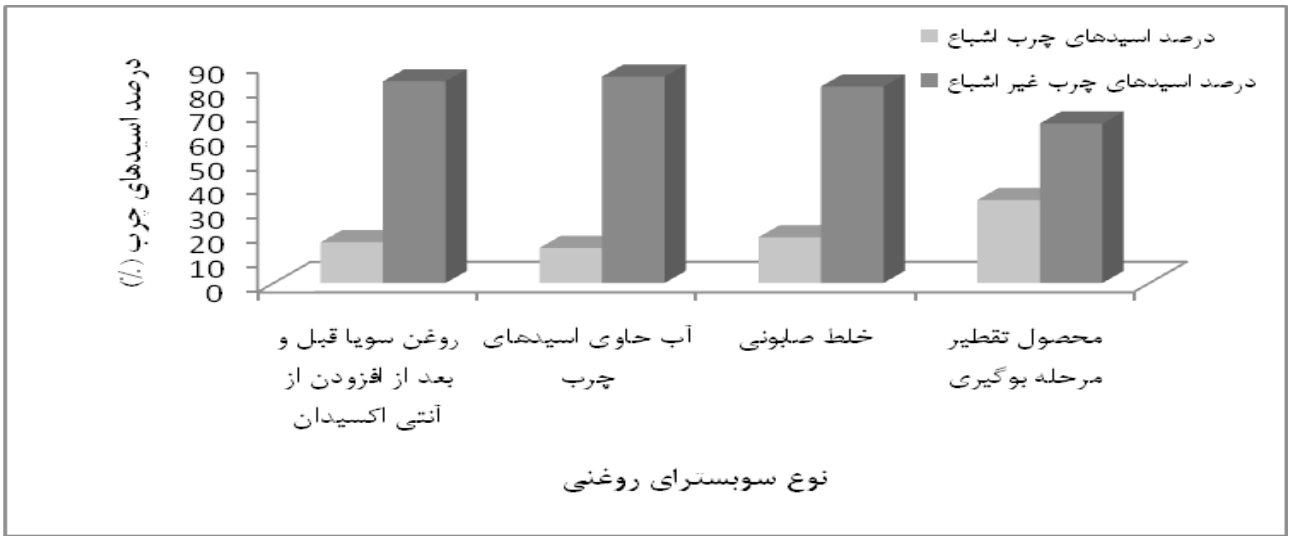
مقادیر، نوع و درصد اسید های چرب موجود در سوبستراهای مختلف کربنی مورد استفاده مانند روغن سویا و مواد پسماند اعم از خلط صابونی، آب حاوی اسیدهای چرب و محصول تقطیر مرحله بوگیری روغن به شرح جدول ۱ می باشد. همانطور که

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.3.9.9.3]

در شکل ۱ مشاهده می شود اگرچه درصد اسید های چرب غیر اشباع در مواد پسماند گوناگون، متفاوت به نظر می رسد اما همواره در مقایسه با درصد اسید های چرب اشباع بیشتر است.

برای تعیین مقدار کل مواد آلی موجود در مواد پسماند فرآوری روغن، مقدار اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (COD) این مواد پسماند اندازه گیری و در شکل ۲ ارائه شده است.



جدول۱- درصد اسید های چرب موجود در روغن سویا و مواد پسماند کارخانه فرآوری روغن

نوع اسید چرب	نوع پسماند / نوع اسید چرب	روغن سویا قبل و بعد از افزودن آنتی اکسیدان	آب حاوی اسیدهای چرب	خلط صابونی	محصول تقطیر مرحله بوگیری
اشباع شده	اسید لوریک	–	–	۰/۰۲	۰/٤٤
	اسید مایریستیک	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۷۱
	اسید پالمیتیک	۱۱/۷٤	۱۰/۰۷	۱۳/۰۷	۲٦/۰۸
	اسید استاریک	٤/۳۹	۳/٤۸	٤/٦۰	٦/٥٦
	اسید آراشیدیک	۰/۲۱	۰/٤۲	۰/٤۸	۰/۱۹
	اسید بهنیک	۰/۳۳	۰/۳۸	۰/٥۷	۰/۲۱
غیراشباع	اسید پالمیتو اولئیک	۰/۱۲	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۲٤
	ترانس اولئیک	–	۰/٤۸	۰/٦٦	۰/٤۱
	اسید اولئیک	۲۰/۹۰	۳۰/٥۷	۳۲/٤۳	۲۸/۱۸
	سیس اولئیک	۱/۸۷	۳/۰۱	۳/۳۸	۲/۰٦
	ترانس لینولئیک	۰/۹٦	۰/۰٥	۰/۱۳	۰/٤٥
	اسید لینولئیک	٥۰/۸۷	٤۲/۷۹	۳۷/۰۲	۲۹/۱۲
	سیس لینولئیک	۱/٦٤	۱/۲٦	۰/٦۰	۰/۹۹
	ترانس لینولئیک	۱/٦۷	–	۰/۳۲	۰/۳۲
	اسیدلینولئیک	٤/٦٦	٦/۱۹	٥/٥۲	۳/٦۰
	سیس لینولئیک	۰/۳٤	۰/۳٦	۰/٥٤	۰/۲۸
	اسید گادولئیک	–	۰/۰٥	۰/۱۰	۰/۰۲

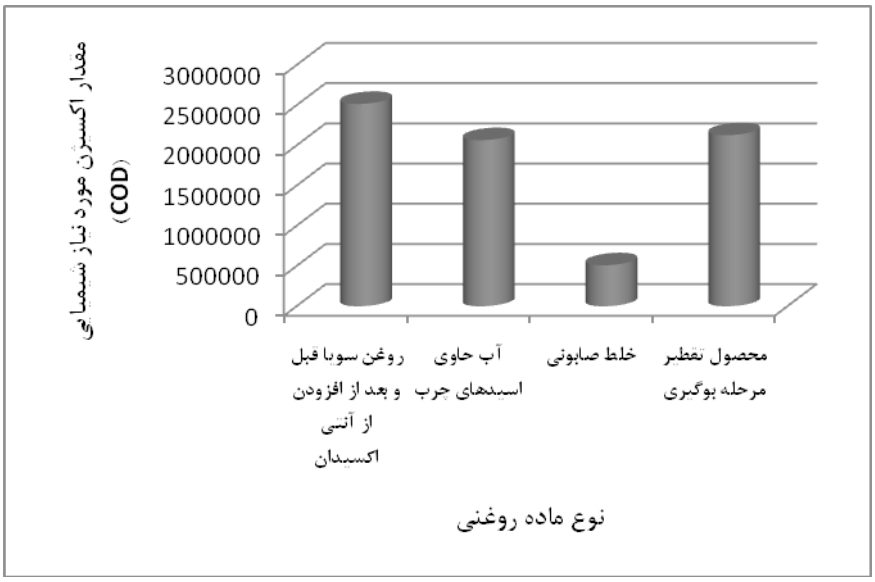
شکل۱- درصد اسید های چرب اشباع و غیر اشباع موجود در روغن سویا و مواد پسماند کارخانه فرآوری روغن

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.3.9.9.3]

غلظت بیوسورفکتانت تولید شده در محیط کشت های حاوی روغن سویا، آب حاوی اسید های چرب، محصول تقطیر مرحله بوگیری و خلط صابونی پس از ۱۰ روز، به ترتیب در حدود (g/l) ۱۸، (g/l)۲۴، (g/l) ۳۹ و (g/l) ۱۴/۵ تعیین شدند. فعالیت امولسیون کنندگی بیوسورفکتانت MR۰۱ در مقابل مواد آبگریز هیدروکربنی و روغنی مختلف مورد آزمایش قرار گرفت و با استفاده از فرمول زیر محاسبه و در جدول ۲ گزارش گردید.

$$E۲۴= \frac{\text{ارتفاع بخش امولسیونی}}{\text{ارتفاع کل}} \times \frac{\text{ارتفاع بخش امولسیونی}}{\text{ارتفاع کل}} \times ۱۰۰$$



شکل۲- مقدار اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (COD) مربوط به روغن سویا و مواد پسماند کارخانه فرآوری روغن

جدول ۲- فعالیت امولسیون کنندگی بیوسورفکتانت در مقابل مواد آبگریز هیدرو کربنی و روغنی

ترکیبات روغنی	شاخص امولسیون کنندگی (E24)		
	ترایتون – ایکس ۱۰۰	سدیم دو دسیل سولفات	بیوسورفکتانت MR01
هگزان	٤٣/٢	٤٣/٢	٤٠/٥
تولوئن	١٨/٧	٣٥/١	١٦/٢
زایلن	٢٩/٧	٤٣/٢	١٠/٨
ایزوبوتانول	٠	٤٢/٤	٠
دیزل	٤٨/٦	٣٧/٨	٤٥/٩
نفت خام	٥/٤	٢/٧	٥/٤
روغن سویا	٤٥/٩	٥١/٣	٤٥/٩
روغن آفتابگردان	٣٧/٨	٥٢/٧	٤٠/٥

بحث

تجاری سازی موفق هر محصول زیستی بستگی زیادی به اقتصاد سنتز زیستی آن دارد. در حال حاضر، در نتیجه هزینه تولید بالا و پایین بودن راندمان تولید بیوسورفکتانت، قیمت سورفکتانت های میکروبی قابل رقابت با سورفکتانت های شیمیایی نیست. از اینرو، بیوسورفکتانت ها با وجود مزایای بسیاری که دارند هنوز وارد صنعت نشده اند؛ استفاده از سوبستراهای ارزان تر یکی از روش های پیشنهادی برای از میان برداشتن این مانع می باشد. این تحقیق، امکان تولید بیوسورفکتانت را با استفاده از منابع کربنی ارزان قیمت تر مانند مواد پسماند روغنی اعم از خلط صابونی، آب حاوی اسید های چرب و محصول تقطیر مرحله

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.3.9.9.3]

بوگیری روغن، نشان داد. تولید بیوسورفکتانت رامنولیپیدی از مواد پسماند روغنی با استفاده از سویه های *سودوموناسی*، پیش از این هم توسط محققین دیگر گزارش شده است که به عنوان نمونه می توان به موارد زیر اشاره کرد: Mercadé و همکارانش در سال ۱۹۹۳ اولین گروهی **بودند** که روی تولید رامنولیپید از پسآب روغن کشی زیتون توسط *سودوموناس آئروژینوزا* 47T2 گزارش داشتند (۱۵). هابا[1] و همکارانش طی تحقیقی که در سال ۲۰۰۰ انجام گرفت، حداکثر تولید رامنولیپید از مخلوط پسماند روغن سرخ **کردنی** آفتابگردان و زیتون توسط سویه *سودوموناس آئروژینوزا* ۴۷T۲ NCIB ۴۰۰۴۴ را ۲/۷ g/l اعلام کردند (۱۱). تولید رامنولیپید از پسماند خلط صابونی روغن سویا توسط سویه *سودوموناس آئروژینوزا* LBI که بوسیله Nitschke و همکارانش در سال ۲۰۰۵ انجام شد ۱۱/۷۲ g/l گزارش شده است (۲۱). بِنین کاسا[2] و همکارانش در سال های ۲۰۰۲ و ۲۰۰۴ در مورد تولید رامنولیپید توسط سویه *سودوموناس آئروژینوزا* LBI از پسماند خلط صابونی روغن آفتابگردان مطالعه نموده و حداکثر تولید رامنولیپید را ۱۶ g/l گزارش کرده اند (۴ و ۵). حداکثر تولید رامنولیپید از پسماند تصفیه روغن سویا توسط سویه *سودوموناس آئروژینوزا* AT۱۰ که آبالوس[3] و همکارانش در سال ۲۰۰۱ مورد مطالعه قرار دادند، به میزان g/l ۹/۵ گزارش شده است (۱). طَوَسی[4] و همکارانش در سال ۲۰۱۱ کیک روغن **بادام** زمینی را برای تولید رامنولیپید از *سودوموناس آئروژینوزا* مورد بررسی قرار دادند. کیک روغن بادام زمینی یک باقیمانده متشکل از کربوهیدرات، پروتئین و لیپید است که در طی تولید روغن بادام زمینی ایجاد می شود و در مقایسه با سایر منابع کربنی نظیر گلوکوز، فروکتوز، نفت خام و سایر منابع هیدروکربنی بسیار ارزان قیمت تر است. آن ها حداکثر تولید توده زیستی و تولید بیوسورفکتانت را با استفاده از کیک روغن بادام زمینی در فرمانتور ۳ لیتری، پس از گذشت ۱۳۲ ساعت، به ترتیب معادل g/l ۱۱/۶ و g/l ۸/۶ گزارش کرده اند (۳۲). به این ترتیب مقایسه گزارشات فوق با نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می **دهد** که میزان تولید بیوسورفکتانت از پسماندهای مختلف فرآوری روغن سویا توسط سویه *سودوموناس آئروژینوزا* MR۰۱ به میزان قابل توجهی بیشتر از مقادیر گزارش شده در تحقیقات پیشین (۱، ۴، ۵، ۱۱، ۱۵، ۲۱ ؛ ۳۲) می باشد. به این ترتیب می توان نتیجه گرفت که پسماند های مورد استفاده در این تحقیق از پتانسیل بالایی در تولید بیوسورفکتانت ها برخوردارند. در صورت مرتب سازی نتایج مشاهده شده برای میزان تولید بیوسورفکتانت استخراج شده از محیط کشت های حاوی روغن سویا، آب حاوی اسیدهای چرب، محصول تقطیر مرحله بوگیری و خلط صابونی پس از ۱۰ روز، خواهیم داشت:

$BS_{(\text{خلط صابونی})} > BS_{(\text{روغن سویا})} > BS_{(\text{آب حاوی اسیدهای چرب})} > BS_{(\text{محصول تقطیر مرحله بوگیری})}$

که در آن BS علامت اختصاری بیوسورفکتانت بر حسب گرم بر لیتر می باشد. اگرچه برداشت اولیه از نتایج فوق بیانگر میزان تولید بیشتر بیوسورفکتانت در محیط کشت حاوی محصول تقطیر مرحله بوگیری است، با این وجود نمی توان نتیجه گیری کرد که لزوما راندمان تولید در محیط کشت حاوی محصول تقطیر مرحله بوگیری بیشتر است. برای قضاوت در این خصوص لازم است تا مطالعات و مشاهدات بیشتری صورت گیرد؛ به این ترتیب که با تعیین درصد خلوص محصولات و نیز میزان مصرف سوبسترا در هر محیط کشت، می توان راندمان محصول **دهی** در محیط کشت های حاوی منابع کربنی متفاوت را محاسبه و مقایسه کرد تا با استفاده از این داده ها بتوان فرآیند اقتصادی تر را گزارش نمود. همانطورکه در شکل ۲ نشان داده شده است، مواد پسماند فرآوری روغن به جهت بالا بودن COD و داشتن مواد مغذی لازم بستری مناسب جهت رشد و نمو میکروارگانیسم ها و نهایتا به عنوان یک آلاینده محیط زیست خواهند بود. همچنین این مواد به دلیل دارا بودن درصد بالای چربی خصوصا اسید های چرب غیر اشباع، در صورتی که در مجاورت هوای آزاد قرار گیرند اکسیده و فاسد می گردند. همچنین، اسید های چرب غیر اشباع موجود در طبیعت قادر به تحمل تبدیلات بیشتری هستند که منجر به تشکیل ساختمان های غیر معمول می گردند. به این ترتیب، رها کردن این مواد در طبیعت، متعاقبا آلودگی های زیست محیطی را به دنبال خواهد داشت. داده های موجود در جدول ۲ نشان می **دهند** که فعالیت امولسیون کنندگی بیوسورفکتانت حاصل از *سودوموناس آئروژینوزا* MR۰۱ قابل رقابت با سورفکتانت های

1-Haba
2-Benincasa
3-Abalos
4-Thavasi

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.3.9.9.3]

سنتزی مانند ترایتون ایکس-۱۰۰ و سدیم دو دسیل سولفات می باشد. همچنین استنباط می شود که بیوسورفکتانت تولید شده از مواد پسماند روغنی قابلیت پاکسازی آلودگی هیدروکربنی ناشی از صنایع نفتی و روغنی را دارا بوده و به این ترتیب امکان استفاده ازآن در پاکسازی زیستی خاک و آب فراهم می باشد. بنابراین تولید بیوسورفکتانت ضمن کاستن از معضل تجمع مواد پسماند، قادر به کاهش آلاینده های آبگریز روغنی بوده و نیز به جهت برخورداری از ویژگی زیست تخریب پذیری، خود بعنوان آلاینده ثانویه محیط زیست محسوب نمی گردد و این امتیازی است که در مقایسه با همتاهای سنتزی خود نظیر ترایتون ایکس-۱۰۰ و سدیم دو دسیل سولفات دارا می باشد. نتایج نشان می دهد که تحقیق حاضر، در پی یافتن منابع کربنی ارزان قیمت تر برای تولید ماده ارزشمند بیوسورفکتانت و بطور ثانوی دفع اقتصادی تر ترکیبات روغنی به نتایج ارزشمندی دست یافته است که قابلیت کاربرد در حوزه مدیریت پسماند را دارا می باشد.

تشکر و قدردانی

از مدیر عامل محترم شرکت صافولا بهشهر جناب آقای مهندس عباسعلی پور و نیز جناب آقای مهندس عامری، رئیس آزمایشگاه تحقیقات این شرکت، قدردانی و تشکر می شود.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.3.9.9.3]

منابع

(1) Abalos A, Pinazo A, Infante MR, Casals M, García F, Manresa A. Physicochemical and Antimicrobial Properties of New Rhamnolipids Produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from Soyabean Oil Refinery Wastes. Langmuir, 2001; 17:1367-1371.

(2) Abdel-Mawgoud A, Aboulwafa M, Hassouna N. Optimization of Surfactin Production by *Bacillus subtilis* Isolate BS5. Appl Biochem Biotechnol, 2008; 150:305-325.

(3) Bednarski W, Adamczak M, Tomasik J, Płaszczyk M. Application of Oil Refinery Waste in Biosynthesis of Glycolipids by Yeast. Bioresource Technol, 2004; 95:15-18.

(4) Benincasa M, Abalos A, Oliveira I, Manresa A. Chemical Structure, Surface Properties and Biological Activities of the Biosurfactant Produced by *Pseudomonas aeruginosa* LBI from Soapstock. Antonie van Leeuwenhoek, 2004; 85:1-8.

(5) Benincasa M, Abalos A, Moreira I, Manresa A. Rhamnolipid Production by *P. aeruginosa* LB1 Growing on Soapstock as the Sole Carbon Source. J Food Eng, 2002; 54:283-288.

(6) Christofi N, Ivshina I. Microbial Surfactants and Their Use in Field Studies of Soil Remediation (A Review). J Appl Microbiol, 2002; 93:915-929.

(7) Daverey A, Pakshirajan K. Sophorolipids from *Candida bombicola* Using Mixed Hydrophilic Substrates: Production, purification and characterization. Colloids Surf B, 2009; 79:246-253.

(8) Dubey K, Juwarkar A. Determination of Genetic Basis for Biosurfactant Production in Distillery and Curd Whey Wastes Utilizing *Pseudomonas aeruginosa* Strain BS2. Indian J Biotechnol, 2004; 3:74-81.

(9) Dubey K, Juwarkar A. Distillery and Curd Whey Wastes as Viable Alternative Sources for Biosurfactant Production. World J Microbiol Biotechnol, 2001; 17:61-69.

(10) Gautam K, Tyagi V. Microbial Surfactants: A Review. J Oleo Sci, 2006; 55:155-166.

(11) Haba E, Espuny MJ, Busquets M, Manresa A. Screening and Production of Rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCIB 40044 from Waste Frying Oils. J Appl Microbiol, 2000; 88:379-387.

(12) Lee K, Hwang SH, Ha S, Jang JH, Lim DJ, Kong JY. Rhamnolipid Production in Batch and Fed-Batch Fermentation Using *Pseudomonas aeruginosa* BYK-2 KCTC 18012P. Biotechnol Biopro Eng, 2004; 9:267-273.

(13) Lotfabad TB, Shourian M, Roostaazad R, Najafabadi AR, Adelzadeh MR, Noghabi KA. An Efficient Biosurfactant-Producing Bacterium *Pseudomonas aeruginosa* MR01, Isolated From Oil Excavation Areas in South of Iran. Colloids Surf B, 2009; 69:183-193.

(14) Makkar RS, Cameotra SS, Banat IM. Advances in Utilization of Renewable Substrates for Biosurfactant Production (Mini Review). AMB Express, 2011; 1:1-19.

(15) Mercadé ME, Manresa MA, Robert M, Espuny MJ, de Andres C, Guinea J. Olive Oil Mill Effluent (OOME), New Substrate For Biosurfactant Production. Bioresour Technol, 1993; 43:1-6.

(16) Montoneri E, Boffa V, Savarino P, Perrone DG, Musso G, Mendichi R, Chierotti MR, Gobetto R. Biosurfactants from Urban Green Waste. ChemSusChem, 2009; 2:239-247.

(17) Moore WA, Kroner RC, Ruchhoft CC. Dichromate Reflux Method for Determination of Oxygen Consumed. Anal Chem, 1949; 21:953-957.

(18) Mukherjee S, Das P, Sen R. Towards Commercial Production of Microbial Surfactants (Review). TRENDS in Biotechnology, 2006; 24:509-511.

(19) Myers D. Surfactant Science and Technology. Hoboken, New Jersey.: John Wiley and Sons, Inc., 2006.

(20) Nitschke M, Pastore GM. Production and Properties of a Surfactant Obtained from *Bacillus subtilis* Grown on Cassava Wastewater. Bioresource Technol, 2006; 97:336-341.

(21) Nitschke M, Costa SG, Haddad R, Gonçalves LA, Eberlin MN, Contiero J. Oil Wastes as Unconventional Substrates for Rhamnolipid Biosurfactant Production by *Pseudomonas aeruginosa* LB1. Biotechnol Prog, 2005; 21:1562-1566.

(22) Nitschke M, Pastore GM, Biosurfactant Production by *B. subtilis* Using Cassava-Processing Effluent. Appl Biochem Biotechnol, 2004; 112:163-172.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.3.9.9.3]

(23) Nitschke M, Pastore G. Cassava Flour Wastewater as a Substrate for Biosurfactant Production. Appl Biochem Biotechnol, 2003; 105-108:295-301.

(24) Noah KS, Bruhn DF, Bala GA. Surfactin Production from Potato Process Effluent by *Bacillus subtilis* in a Chemostat. App. Biochem Biotechnol, 2005; 122:465-474.

(25) Noah KS, Fox SL, Bruhn DF, Thompson DN, Bala GA. Development of Continuous Surfactin Production from Potato Process Effluent by *Bacillus subtilis* in an Airlift Reactor. Appl Biochem Biotechnol, 2002; 98-100:803-813.

(26) Onbasli D, Aslim B. Determination of Rhamnolipid Biosurfactant Production in Molasses by Some *Pseudomonas* spp. New Biotechnol, 2009; 25:S255-S255.

(27) Pekin G, Vardar-Sukan F, Kosaric N. Production of Sophorolipids from *Candida bombicola* ATCC 22214 Using Turkish Corn Oil and Honey. Eng Life Sci, 2005; 5:357-362.

(28) Rahman KS, Rahman TJ, McClean S, Marchant R, Banat IM. Rhamnolipid Biosurfactant Production by Strains of *Pseudomonas aeruginosa* Using Low-Cost Raw Materials. Biotechnol Prog, 2002; 18:1277-1281.

(29) Singh A, Van Hamme JD, Ward OP. Surfactants in Microbiology and Biotechnology:Part 2. Application aspects. Biotechnol Adv, 2007; 25:99-121.

(30) Thompson DN, Fox SL, Bala GA. The Effects of Pretreatments on Surfactin Production from Potato Process Effluent by *Bacillus subtilis*. Appl Biochem Biotechnol, 2001; 91-93:487-502.

(31) Thompson DN, Fox SL, Bala GA. Biosurfactants from Potato Process Effluents. Appl Biochem Biotechnol, 2000; 84-86:917-930.

(32) Thavasi R, Subramanyam Nambaru VRM, Jayalakshmi S, Balasubramanian T, Banat IM. Biosurfactant Production by *Pseudomonas aeruginosa* from Renewable Resources. Indian J Microbiol, 2011; 51:30-36.

(33) Trummler K, Effenberger F, Syldatk C. An Integrated Microbial/Enzymatic Process for Production of Rhamnolipids and L-(+)-rhamnose from Rapeseed Oil With *Pseudomonas* sp. DSM 2874. Eur J Lipid Sci Tech, 2003;105:563-571.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.3.9.9.3]