

Reduction of BOD and COD of the Effluent by Native Bacteria Isolated from Herbal Distillation Industry

Goodarzi M.¹ *MSc*, Rafiee-Pour H.A.¹ *PhD*, Jookar Kashi F.*¹ *PhD*

¹ Molecular & Cell Biology Department, Chemistry Faculty, University of Kashan, Kashan, Iran

Abstract

The waste produced by households, industry, and factories to use as wash water and cooling systems and equipment, is caused environmental complications. Waste created a suitable environment for the growth of odor and pathogenic bacteria. The present study aimed to isolate microorganisms in the wastewater and use them for the reduction of BOD (biochemical oxygen demand) and COD (chemical oxygen demand). The samples were collected aseptically from different parts of wastewater of herbal distillation industry. The bacterial strains were isolated from the samples in LB media. The isolates were distinguished based on the morphology and biochemical characteristics. Among the total 69 isolates, four isolates were selected to measure the ability to reduce BOD and COD and added to the wastewater. Reduction of BOD was measured using BOD meter. Also, COD was determined by the titration method. The isolates were identified by biochemical tests. The amount of BOD and COD reduction after adding selected strains to wastewater was 47.43-71.82% and 44.79-56.50%, respectively. Also, the consortium of bacterial strains showed better ability to reduce BOD and COD (38.32-57.29% and 76.6-83.21%, respectively). The results determined that wastewater contains bacterial strains that have shown a significant reduction in BOD and COD and organic matter decomposition in wastewater and reuse it in agricultural and industrial sectors. Therefore, these strains can be used for herbal distillation industry treatment.

Keywords

Wastewater Herbal Distillation Industry [Not in MeSH];
Wastewater Treatment [Not in MeSH];
Native Bacterial [Not in MeSH];
BOD [Not in MeSH];
COD [Not in MeSH]

*Corresponding Author

Tel: +98 (31) 55913042

Fax: +98 (31) 55912397

Post Address: Cell & Molecular Biology Department, Chemistry Faculty, University of Kashan, 6 Kilometer of Ghotbe Ravandi Boulevard, Kashan. Postal code: 8731753153

jookar@kashanu.ac.ir

Received: October 19, 2017

Accepted: September 30, 2019

ePublished: March 14, 2020

کاهش BOD و COD پساب توسط باکتری‌های بومی جداسده از پساب صنایع عرق‌گیری گیاهی

محمد گودزی MSc

گروه بیوتکنولوژی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

حسینعلی رفیعی‌پور PhD

گروه بیوتکنولوژی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

فرشته جوکارکاشی PhD*

گروه بیوتکنولوژی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

چکیده

پساب حاصل از استفاده آب در مصارف خانگی، صنایع و کارخانه‌ها سبب عوارضی زیست‌محیطی می‌شود که با ایجاد بوی نامطبوع، محیط مناسبی برای رشد باکتری‌های بیماری‌زا فراهم می‌کند. در مطالعه حاضر پس از جداسازی میکروارگانیسم‌های بومی پساب صنایع عرق‌گیری گیاهی، توانایی آنها برای کاهش BOD و COD پساب بررسی شد. از قسمت‌های مختلف پساب صنایع عرق‌گیری کاشان نمونه برداری شد. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، از محیط کشت لیزوژنی براث، برای جداسازی باکتری‌ها استفاده شد. جدایه‌ها براساس ویژگی‌های ظاهری و بیوشیمیایی تفکیک شدند. از میان ۶۹ جدایه، چهار جدایه برای سنجش توانایی کاهش BOD و COD انتخاب و به پساب کارخانه عرق‌گیری افزوده شدند. کاهش BOD پس از پنج روز با استفاده از دستگاه BOD متر و کاهش COD به روش تیتراسیون اندازه‌گیری شد. جدایه‌ها براساس آزمون‌های بیوشیمیایی شناسایی شدند. پس از افزودن سویه‌های منتخب به پساب، میزان BOD و COD به ترتیب به ۴۷/۴۳-۷۱/۸۲٪ و ۴۴/۷۹-۵۶/۵۰٪ کاهش یافتند. همچنین با افزودن کنسرسیوم سویه‌ها به پساب، میزان BOD و COD به ترتیب به ۷۶/۶-۸۳/۲۱٪ و ۳۸/۳۲-۵۷/۲۹٪ کاهش پیدا کردند. طبق نتایج، پساب حاوی سویه‌های باکتریایی است که توانایی بالایی در کاهش میزان BOD و COD و همچنین تجزیه مواد آلی موجود در پساب دارند، به گونه‌ای که با استفاده مجدد از پساب تصفیه‌شده، امکان سرمایه‌گذاری در بخش کشاورزی و صنعت وجود دارد. بنابراین می‌توان از این سویه‌ها برای تصفیه پساب صنایع عرق‌گیری گیاهی استفاده کرد. **کلیدواژه‌ها:** پساب صنایع عرق‌گیری گیاهی، تصفیه پساب، باکتری‌های بومی، BOD، COD

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۷/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۷/۸

*نویسنده مسئول: jookar@kashanu.ac.ir

مقدمه

پساب ماده نامطبوع با بوی بد و مملو از عوامل بیماری‌زا و حاصل فعالیت‌های صنعتی و بهداشتی انسان است. مهم‌ترین خطر وجود پساب، آلودگی محیط و آب‌های سطحی و زیرزمینی است. از گذشته تاکنون تلاش پژوهشگران برای تصفیه پساب و بازگرداندن آب موجود در آن به چرخه مصرف ادامه دارد [1-3].

به دلیل استفاده از گیاهان مختلف از جمله نعنا، گل محمدی (یک نوع رز)، اسطوخودوس، بادرنجبویه و غیره برای عرق‌گیری، پساب این صنایع دارای ترکیبات مختلفی است. بقایای گیاهی، فیبرها و پلی‌ساکاریدها بیشترین مواد تشکیل‌دهنده پساب این صنایع به شمار می‌آیند. بقیه ترکیبات در مقادیر اندک و شامل موادی مانند

الکل‌ها، تانن‌ها، فنل‌ها، فلاونوئیدها و غیره هستند. ترکیبات آلی موجود در پساب به راحتی توسط باکتری‌ها (روش زیستی) و با بازده بالا تجزیه می‌شود [4]. روش‌های مختلفی به منظور تصفیه پساب به کار می‌رود. یکی از آنها روش تصفیه زیستی است که با استفاده از میکروارگانیسم‌ها، مواد آلی موجود در پساب به آب، دی‌اکسیدکربن و گاهی به متان تبدیل می‌شوند که این امر سبب حذف آلودگی از پساب می‌شود [5]. در تصفیه پساب برای تبدیل مواد آلی محلول و کلوییدی به موادی که به آسانی از آب جدا می‌شوند از میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شود. میکروارگانیسم‌ها در پساب رشد و با تغذیه از مواد آلی موجود، این مواد را به عنوان بخشی از چرخه سوخت و ساز حیاتی خود تجزیه می‌کنند. مواد معلق موجود در پساب میکروارگانیسم‌هایی هستند که با یک ته‌نشین‌سازی ساده از پساب جدا می‌شوند و بیشتر مواد آلی پساب از آن جدا می‌شود [6]. در سال ۱۸۶۹ تجزیه آلی مواد آلوده‌کننده رودخانه‌ها توسط فرآیندهای میکروبی آغاز شد. جی‌کونینگ ابتدا با وارد کردن یک شبکه سیمی به داخل فاضلاب و گرماگذاری آن به مدت یک هفته تشکیل بیوفیلم باکتریایی روی شبکه سیمی و حل شدن مواد آلی را مشاهده کرد. در نهایت در سال ۱۹۱۲ تجزیه مواد آلی پساب توسط میکروارگانیسم‌های موجود در آن بنیان نهاده شد [3]. از سال ۱۹۱۲ تاکنون روش‌های مختلفی برای تجزیه و اندازه‌گیری مواد محلول در پساب استفاده شده است. این روش‌ها شامل تعیین میزان اکسیژن‌خواهی زیستی طی پنج روز (BOD₅)، تعیین میزان اکسیژن‌خواهی شیمیایی (COD)، اندازه‌گیری اکسیژن محلول (DO) و تجزیه مواد آلی پساب با استفاده از نانوذرات هستند. از سال ۱۹۷۰ به بعد اندازه‌گیری شاخص‌های مهم در پساب مانند pH، COD، BOD و غیره با استفاده از دستگاه‌های خودکار انجام می‌شود. همچنین جداسازی و بررسی ترکیبات آلی و غیرآلی درون پساب با استفاده از کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) انجام می‌شود [3، 7-10].

تاکنون مطالعات وسیعی در خصوص تجزیه مواد آلی و کاهش BOD و COD با استفاده از میکروارگانیسم‌ها انجام شده است. ساراسواتی و ساسیتاران با جداسازی میکروارگانیسم‌های پساب کارخانه کارتن‌سازی نشان دادند که *Pseudomonas alkaliigenes* با کاهش COD و BOD به میزان ۹۲ و ۷۷٪، به ترتیب بیشترین توانایی را در بین میکروارگانیسم‌های پساب کارخانه کارتن‌سازی دارد [11]. داس و همکاران از مناطق مختلف پساب کارخانه داروسازی ۹ نمونه را جمع‌آوری و با استفاده از کنسرسیوم باکتری‌های به دست آمده پساب را تیمار کردند. با این تیمار سطح سولفات از ۱۵۲۷ به ۶۵/۸ میلی‌گرم در لیتر و مواد جامد محلول (TDS) از ۱/۴۵۲-۴۸۴ به ۶۸-۵۴۰ میلی‌گرم در لیتر و میزان COD از ۱۵۴۲/۹-۱۲۵۷/۹ به ۱۱۳/۲-۳۷۷/۶ میلی‌گرم در لیتر رسید [12]. مادوکاسی و دایثرو از باکتری فتوتروف *Rhodobacter spheroids* برای تیمار پساب کارخانه داروسازی استفاده کردند که در نتیجه آن COD به میزان ۸۸۰ میلی‌گرم در لیتر (۸۰٪) کاهش یافت [13].

BOD پساب پس از تلقیح جدایه‌های انتخابی با دستگاه BOD متر ارزیابی شد. BOD نمونه پساب بدون تلقیح باکتری به‌عنوان شاهد نیز اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری COD

۴/۰ میلی‌گرم جیوه‌سولفات، ۱۰ میلی‌لیتر پتاسیم‌بی‌کرومات، ۳۰ میلی‌لیتر محلول سولفوریک‌اسید و نقره‌سولفات، ۲۰ میلی‌لیتر نمونه به همراه آب مقطر (برداشتن حجمی از نمونه و رساندن آن به حجم ۲۰ میلی‌لیتر با آب مقطر، به‌طوری‌که موجب سبزشدن آن نشود) به یک بالن ژوژه اضافه شد. چهار عدد سنگ جوش داخل بالن حجمی انداخته و ۳۰ میلی‌لیتر محلول سولفوریک‌اسید و نقره‌سولفات به محلول اضافه شد. این مرحله به‌آرامی، همراه با تکان دادن و در زیر شیر آب سرد انجام شد. محلول را روی اجاق سوکسله قرار داده و بعد از جوش آمدن آن زمان یادداشت شد. بعد از گذشت ۲ ساعت و سردکردن محلول سه قطره شناساگر فریون (مرک؛ آلمان) به آن اضافه شد و عمل تیتراسیون با محلول فروسولفات شش‌آبه تا زمان تغییر رنگ آن از نارنجی به قهوه‌ای روشن ادامه یافت. مراحل بالا همزمان برای شاهد (به جای نمونه آب مقطر) نیز انجام و در پایان با استفاده از رابطه زیر COD محاسبه شد [15]:

$$\text{COD} = \frac{8000 \times (\text{فروسولفات نمونه (میلی‌لیتر)} - \text{فروسولفات شاهد (میلی‌لیتر)})}{\text{مقدار نمونه اولیه رقیق‌نشده}}$$

(میلی‌گرم در لیتر)

گرماگذاری در دستگاه BOD متر

به‌منظور اندازه‌گیری BOD ابتدا مقدار عددی COD حاصل بر دو تقسیم و براساس عدد حاصل حجم‌های لازم برای انجام آزمایش‌ها محاسبه و تهیه شد. از آنجا که بایستی pH نمونه بین ۶/۵ تا ۸/۵ باشد، در صورت اسیدی‌بودن نمونه، با سود یک یا ۱/۰ نرمال و در صورت بازی‌بودن با سولفوریک‌اسید نرمال یا ۲/۰ نرمال خنثی می‌شود. همچنین چند قطره لجن فعال به نمونه نیز اضافه خواهد شد. پس از ریختن حجم لازم از نمونه داخل بطری مخصوص دستگاه BOD متر، یک عدد آهن‌ربای پوشش‌دار نیز داخل بطری انداخته و با توجه به میزان ذکرشده در جدول ۱ مقدار لازم از مهارکننده نیتریفیکاسیون (ATH) به بطری اضافه شد. درپوش پلاستیکی بر درب بطری قرار داده و سه قطره پتاسیم‌هیدروکسید به داخل درپوش اضافه و در دمای ۲۰°C در گرمخانه مخصوص قرار داده شد [11].

جدول ۱) اضافه‌کردن مقدار نمونه برای محاسبه BOD از طریق اندازه‌گیری COD

مقدار ATH (قطره)	میزان نمونه (میلی‌لیتر)	میزان BOD محاسبه‌شده (میلی‌گرم بر لیتر)
۱۰	۴۲۸	۰-۴۰
۱۰	۳۶۰	۰-۸۰
۵	۲۴۴	۰-۲۰۰
۵	۱۵۷	۰-۴۰۰
۳	۹۴	۰-۸۰۰
۳	۵۶	۰-۲۰۰۰
۱	۲۲	۰-۴۰۰۰

مطالعه حاضر با هدف جداسازی باکتری‌های بومی دارای توانایی کاهش BOD و COD از پساب صنایع عرق‌گیری گیاهی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و بررسی ویژگی‌های نمونه‌ها

در مطالعه حاضر یکی از کارخانه‌های عرق‌گیری گیاهی قمصر کاشان به‌عنوان محل نمونه‌برداری انتخاب شد. نمونه‌ها از محل تجمع پساب کارخانه در فصل‌های مختلف و در سال‌های ۱۳۹۳ تا ۱۳۹۵ در ظروف استریل جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌ها شامل آب، خاک و لجن‌های آلوده به پساب بودند. دمای نمونه‌ها با دماسنج در محل و pH هر یک از نمونه‌ها در آزمایشگاه اندازه‌گیری و ثبت شد. نمونه‌ها در دمای ۴°C و در کمترین زمان ممکن به آزمایشگاه منتقل شدند و آنالیزهای مربوط روی پساب جمع‌آوری‌شده انجام شد.

کشت، جداسازی و خالص‌سازی میکروارگانیسم‌ها

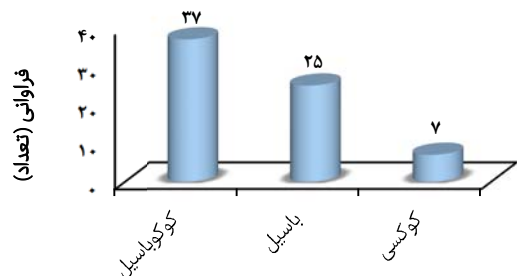
برای دستیابی به باکتری‌های هتروتروف هوازی محیط کشت LB اگر انتخاب شد. تلقیح نمونه‌های خاک، لجن و پساب با استفاده از روش رقت‌های پیاپی تا رقت ۱۰^{-۶} روی محیط کشت برای جداسازی انجام شد. ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از رقت‌های حاصل روی پلیت‌های حاوی محیط کشت تلقیح و با استفاده از میله شیشه‌ای سرکج در سطح پلیت کاملاً پخش شد. محیط‌های تلقیح‌شده در دمای ۳۰°C به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شدند. در ادامه برای اطمینان از خالص‌بودن جدایه‌ها، کشت متوالی انجام شد. بعد از خالص‌سازی باکتری‌ها، کلنی‌های دارای ویژگی‌های ریخت‌شناسی (شکل، اندازه، رنگ، قوام، حاشیه و برآمدگی سطحی) متفاوت جداسازی و نام‌گذاری شدند. برای شناسایی اولیه سویه‌ها و تایید خالص‌بودن کلنی‌ها، رنگ‌آمیزی گرم براساس روش هوکر و آزمایش‌های اکسیداز، کاتالاز و پتاسیم‌هیدروکسید ۳٪ انجام شد. برای شناسایی بیشتر سویه‌های منتخب، از آزمون‌های بیوشیمیایی شامل بررسی مصرف سیترات، بررسی فعالیت آمیلازی و همچنین مصرف قندهای مختلف گلوکز، لاکتوز و مانیتول استفاده شد [14].

آماده‌سازی توده باکتریایی و تلقیح به پساب

به‌منظور تهیه توده باکتریایی برای تلقیح به نمونه‌های پساب، یک کلونی از سویه منتخب برداشته و در ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت LB مایع تلقیح و در دمای ۳۰°C در شیکر با سرعت ۱۳۰ دور بر دقیقه گرماگذاری شد. یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی با کدورت معادل نیم مک‌فارلند به ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت LB مایع تلقیح و در دمای ۳۰°C در شیکر با سرعت ۱۳۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شد. سپس در دمای ۴°C با سرعت ۵۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و توده باکتریایی حاصل ۲ بار با سرم فیزیولوژی شست‌وشو داده شد. در ادامه ۳/۰ گرم از توده باکتریایی به پساب تلقیح و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰°C در شیکر با سرعت ۱۳۰ دور بر دقیقه گرماگذاری شد. توانایی کاهش

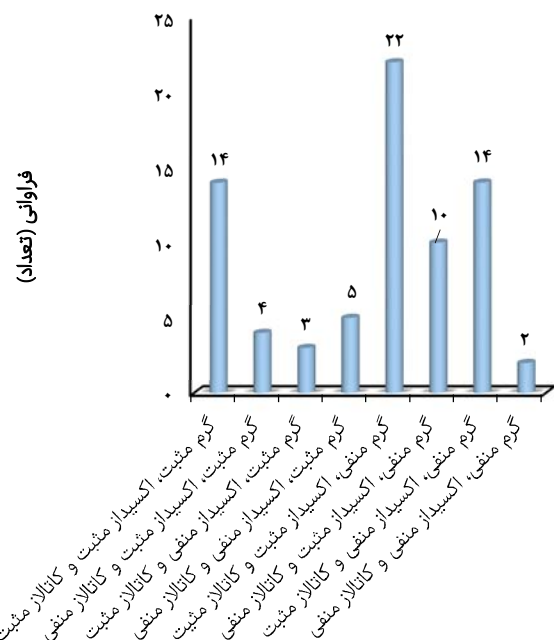
یافته‌ها

۳۸/۳۲٪ به دست آمد. نتایج حاصل نشان می‌دهد که تلقیح کنسرسیوم نسبت به سویه خالص کاهش BOD بیشتری را در پی دارد، در حالی که کاهش COD با تلقیح سویه‌ها به صورت جداگانه بیشتر از تلقیح کنسرسیوم سویه‌ها است (جدول ۵).



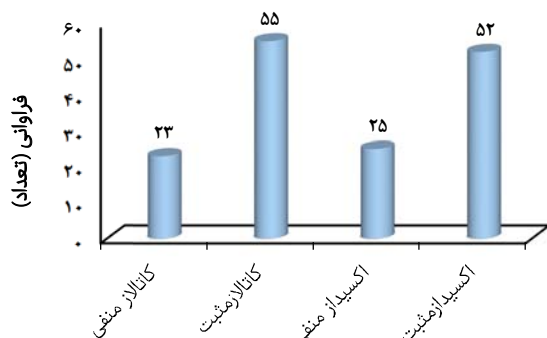
شکل سلولی سویه‌های باکتریایی

نمودار (۱) فرآوانی تعداد سویه‌ها به تفکیک ریخت‌شناسی سلولی



سویه‌های باکتریایی

نمودار (۲) فرآوانی تعداد باکتری‌های گرم مثبت، اکسیداز مثبت و کاتالاز مثبت



سویه‌های باکتریایی

نمودار (۳) فرآوانی باکتری اکسیداز و کاتالاز مثبت

به منظور ارزیابی کلی پساب صنایع عرق‌گیری گیاهی، میزان عددی BOD و COD برای فصل‌های مختلفی در سه سال متوالی اندازه‌گیری شد که نتایج در جدول ۲ آورده شده است. براساس این نتایج، میزان BOD پساب بین ۲۳۰۰-۴۲۰۰ و COD بین ۸۸۰۰-۵۳۲۰ میلی‌گرم بر لیتر در فصل‌های مختلف بود (جدول ۲).

جدول ۲) میزان عددی BOD و COD در فصل‌های مختلف سال

فصل نمونه‌گیری و سنجش نمونه‌ها	BOD (میلی‌گرم بر لیتر)	COD (میلی‌گرم بر لیتر)
بهار ۱۳۹۳ (اردیبهشت)	۳۴۰۰	۷۱۰۰
پاییز ۱۳۹۴ (مهر)	۳۰۰۰	۶۸۰۰
زمستان ۱۳۹۴ (بهمن)	۲۳۰۰	۵۳۲۰
زمستان ۱۳۹۵ (بهمن)	۴۲۰۰	۸۸۰۰

* در این فصل کارخانه بیشترین فعالیت را دارد.

براساس تفاوت در ویژگی‌های اولیه کلنی‌ها و رشد آنها، تعداد ۶۹ سویه از نمونه‌ها به دست آمد. از بین باکتری‌های جدا شده، ۴۳ سویه گرم منفی، ۲۶ سویه گرم مثبت و حدود ۵۳/۶٪ از سویه‌ها نیز کوکوباسیل بودند (نمودار ۱). بیشترین تعداد سویه‌ها، گرم منفی، اکسیداز مثبت و کاتالاز مثبت بودند (نمودار ۲). همچنین ۲۵ سویه اکسیداز منفی و ۲۳ سویه کاتالاز منفی گزارش شدند (نمودار ۳). با توجه به نتایج جدول ۳ که حاصل از آزمون‌های بیوشیمیایی است، سویه‌های منتخب K53 و K21 احتمالاً متعلق به جنس‌های باسیلوس و K70 و K57 به ترتیب احتمالاً متعلق به جنس‌های استافیلوکوکوس و پیدوکوکوس هستند [14].

اندازه‌گیری BOD

برای ارزیابی توانایی سویه‌های بومی در کاهش BOD و COD پساب صنایع عرق‌گیری، یک نمونه پساب انتخاب و بررسی شد. جدول ۳ مشخصات نمونه پساب انتخابی کارخانه عرق‌گیری گیاهی را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از آنالیز پساب مقادیر COD کمتر از ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و BOD کمتر از ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر را نشان می‌دهد (جدول ۴). برای اندازه‌گیری BOD با استفاده از هر روشی، آگاهی از میزان COD لازم است [16, 17].

نتایج کاهش BOD و COD پساب بعد از تلقیح سویه‌های باکتریایی در جدول ۵ نشان داده شده است. چهار سویه بومی K21، K53، K57 و K70 به صورت خالص، کنسرسیوم‌های سه‌تایی و چهارتایی از سویه‌ها به پساب تلقیح و پس از ۲۴ ساعت گرماگذاری در دمای ۳۰°C با دستگاه BOD متر ارزیابی شدند. بر این اساس افزودن کشت خالص سویه‌های انتخابی میزان BOD و COD را به ترتیب ۴۷/۴۳-۷۱/۸۲٪ و ۴۴/۷۹-۵۶/۵۰٪ کاهش دادند.

همچنین کنسرسیوم سه سویه و چهار سویه به پساب افزوده شد که پس از سنجش‌های لازم، مشخص شد که BOD به میزان ۷۶/۶ و ۸۳/۲۱٪، به ترتیب کاهش داشته است. کاهش COD برای کنسرسیوم‌های حاوی سه و چهار سویه به ترتیب ۵۷/۲۹ و

محیط می‌شود. با گسترش صنایع تولید گلاب و عرقیات، حجم این پساب‌ها نیز رو به افزایش است و ضرورت تصفیه این پساب‌ها، رفع بوی نامطبوع آنها و برگشت به چرخه آب بیشتر می‌شود.

گل محمدی و نعنا از مهم‌ترین گیاهان مورد استفاده در کارخانه عرقیات گیاهی است. این گیاهان با داشتن ترکیبات حلقوی با پایه سیکلوهگزان بیشترین تاثیر را روی ترکیب‌های پساب این نوع کارخانه‌ها دارند [16, 18].

روش‌های مختلفی برای تصفیه پساب مانند اکسیداسیون، ازناسیون، فتولیز مستقیم، فوتوکاتالیزورهای دی‌اکسیدتانیوم (TiO_2) و فوتوکاتالیز خورشیدی را می‌توان به کار برد. لازم به ذکر است که ویژگی‌های پساب نقش مهمی در انتخاب روش تصفیه دارد. در روش زیستی تصفیه پساب، کارایی میکروارگانیسم‌های زیستی بومی برای تجزیه مواد آلی پساب ارزیابی می‌شود.

روش‌های تیمار شیمیایی پساب صنایع داروسازی برای حذف آلودگی‌های پیچیده موفقیت‌آمیز نیست. در مواردی تجزیه شیمیایی پساب سبب تولید ترکیبات پیچیده‌تری می‌شود که تجزیه آنها دشوارتر است. در روش‌های تصفیه شیمیایی- فیزیکی شیمیایی از مواد شیمیایی و با قیمت بالا استفاده می‌شود که کاربرد این مواد در واحدهای صنعتی مقرون به صرفه نیست و دشواری‌های خاص خود را دارد.

از آنجا که تاکنون در مورد پساب صنایع عرق‌گیری گیاهی و تصفیه آن پژوهشی گزارش نشده است، نتایج این مطالعه با نتایج حاصل از تصفیه پساب کارخانه‌های داروسازی گیاهی مقایسه می‌شود. در پساب‌های صنایع داروسازی گیاهی، استفاده از منعقدکننده‌های غیر آلی مانند نمک‌های آهن و آلومینیوم اثر چشمگیری روی تصفیه پساب ندارد.

در روش‌های زیستی از میکروارگانیسم‌ها و گیاهان برای تصفیه پساب استفاده می‌شود. میکروارگانیسم‌ها مواد تشکیل‌دهنده پساب را از بین می‌برند یا به شکل دیگری تبدیل می‌کنند که در هر دو حالت محصول نهایی نباید سمی و پیچیده‌تر از ترکیب اولیه باشد. از جمله باکتری‌هایی که برای تصفیه زیستی پساب‌های صنعتی استفاده شده‌اند، می‌توان به *Acinetobacter*، *Klebsiella*، *Aeromonas*، *Streptomonas*، *Enterobacter* و *Pseudomonas* اشاره کرد. تجزیه زیستی به عواملی از جمله سمیت ترکیب، غلظت ترکیب، بهره‌وری شرایط طی تخریب، مدت‌زمان نگهداری و حضور دیگر ترکیبات و غلظت آنها بستگی دارد. نتیجه این فرآیند، تجزیه و تبدیل میکروبی ترکیبات به موادی با سمیت کمتر است.

مطالعات فراوانی در سطح دنیا در زمینه جداسازی و اندازه‌گیری توانایی کاهش BOD و COD توسط میکروارگانیسم‌ها انجام شده است [1, 11, 17, 19]. چاتورودی و همکاران باکتری‌هایی از محیط ریزوسفر جداسازی کردند که با دارابودن ۷۶٪ توانایی رنگ‌بری، در مدت ۳۰ روز میزان BOD پساب را ۸۶-۸۵٪ کاهش دادند [20]. سویه‌های بومی جداسازی‌شده در مطالعه حاضر نیز با کاهش BOD

جدول ۳) صفات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی سویه‌های منتخب

ویژگی‌ها	K21	K53	K57	K70
رنگ‌آمیزی گرم	گرم مثبت	گرم مثبت	گرم مثبت	گرم مثبت
رنگ کلنی	شیری	شیری	کرم	سفید مایل به زرد
شکل و آرایش سلولی	باسیل	باسیل	کوکسی درشت با آرایش دوتایی و چهارتایی	کوکسی با آرایش دوتایی و زنجیره‌ای
شکل کلنی	درشت با حاشیه	محدب و برجسته	ریز	متوسط
تولید اسپور	+	+	-	-
آزمون اکسیداز	+	-	-	+
آزمون کاتالاز	+	-	-	+
آزمون هیدرولیز نشاسته	+	-	-	-
آزمون لاکتوز	+	-	+	+
آزمون گلوکز	-	+	+	+
آزمون مانیتول	-	+	-	+

جدول ۴) مشخصات پساب انتخابی کارخانه عرق‌گیری گیاهی برای بررسی کاهش COD و BOD

فاکتور مورد سنجش	پساب ۹۳
COD (میلی گرم بر لیتر)	۷۱۰۰
BOD (میلی گرم بر لیتر)	۳۴۰۰
TDS (میلی گرم بر لیتر)	۷۷۴۴
TSS (میلی گرم بر لیتر)	۳۲۷
هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر سانتی‌متر)	۳/۵۵
کدورت (میلی گرم بر لیتر)	۲۵۵
pH	۵/۴۸

جدول ۵) میزان کاهش BOD و COD پساب بعد از تلقیح سویه‌های باکتریایی

سویه‌های باکتریایی	درصد کاهش BOD	درصد کاهش COD
K21	۷۱/۸۲	۵۶/۲
K53	۶۴/۳	۵۶/۵
K70	۴۷/۴۳	۴۴/۷۹
K57	۶۸/۰	۵۱/۸۷
K21، K53 و K70	۷۶/۶	۵۷/۲۹
K21، K53، K57 و K70	۸۳/۲۱	۳۸/۳۲

بحث

کمبود آب در ایران، تصفیه پساب و بازگرداندن آن به چرخه مصارف خانگی و صنعتی را لازم کرده است. صنایع عرق‌گیری گیاهی یکی از صنایع مهم در این کشور و به‌خصوص شهر کاشان است. کاشان شهری صنعتی، دارای تولید پساب بالا و واقع در منطقه خشک ایران است. کارخانه‌های عرق‌گیری این شهر نیز قسمت زیادی از پساب صنعتی را تولید می‌کنند. در طول فرآیند تولید عرقیات گیاهی و گلاب، ورود پساب‌ها سبب ایجاد بوی بسیار نامطبوع و آلودگی در

پژوهشگر اصلی (۳۴٪): حسینعلی رفیعی‌پور (نویسنده دوم)، روش‌شناس/ پژوهشگر اصلی/ نگارنده بحث (۳۳٪): فرشته جواکارکاشی (نویسنده سوم)، پژوهشگر کمکی/ تحلیلگر آماری (۳۳٪).

منابع مالی: مطالعه حاضر تحت حمایت مالی دانشگاه کاشان انجام شده است.

منابع

- 1- Rana RS, Singh P, Kandari V, Singh R, Dobhal R, Gupta S. A review on characterization and bioremediation of pharmaceutical industries' wastewater: An Indian perspective. Appl Water Sci. 2017;7(1):1-12.
- 2- Khandouzi F, Zamani AA, Parri Zanganeh A. Biotechnology, a true supporter of the environment. J Chem Educ Growth. 2013;26(3):18-23. [Persian]
- 3- Ishak WW, Jamek S, Jalanni NA, Jamaludin NFM. Isolation and identification of bacteria from activated sludge and compost for municipal solid waste treatment system. International Conference on Biology, Environment and Chemistry, 2011, Singapore. Unknown Publisher city: Unknown Publisher; 2011.
- 4- Jaimand K, Mirza M, Sefidkon F, Jamzad Z, Faker Z, Barazandeh MM, et al. Quantitative and qualitative identification of 553 species of medicinal and aromatic plants of Iran and cultivation and domestication 163 species of native and proprietary medicinal plants of Iran. Tehran: Agricultural Research, Education and Extension Organization; 2015. [Persian]
- 5- Bhumibhamon O, Kopraserstak A, Funthong S. Biotreatment of high fat and oil wastewater by lipase producing microorganisms. Kasetsart J. 2002;36:261-7.
- 6- Agamuthu P, Tan YS, Fauziah SH. Bioremediation of hydrocarbon contaminated soil using selected organic wastes. Procedia Environ Sci. 2013;18:694-702.
- 7- Wiesmann U, Dombrowski CM. Fundamentals of biological wastewater treatment. Hoboken: Wiley; 2007.
- 8- Hua Z. Phonological development in specific context: Studies of Chinese-speaking children. Bristol: Multilingual Matters; 2002.
- 9- Cooper PF. Historical aspects of wastewater treatment. In: Lens P, Zeeman G, Lettinga G, editors. Decentralised sanitation reuse: Concepts, system and implementation. London: IWA Publishing; 2001.
- 10- Angelakis AN, Rose JB. Evolution of sanitation and wastewater technologies through the centuries. London: IWA Publishing; 2014.
- 11- Saraswathi R, Saseetharan MK. Investigation on microorganisms and their degradation efficiency in paper and pulp mill effluent. J Water Resour Prot. 2010;2(07):660-4.
- 12- Das MP, Bashwant M, Kumar K, Das J. Control of pharmaceutical effluent parameters through bioremediation. J Chem Pharm Res. 2012;4(2):1061-5.
- 13- Madukasi EI, Dai X, He C, Zhou J. Potentials of phototrophic bacteria in treating pharmaceutical wastewater. Int J Environ Sci Technol. 2010;7(1):165-74.
- 14- Garrity GM, editor. Bergey's manual of systematic bacteriology. 2nd Edition. 2nd Volume. New York: Springer; 2005.
- 15- Bridgewater L; American Public Health Association; American Water Works Association; Water Environment Federation. Standard method for the examination of

به ۸۳/۲۱٪ در مدت ۲۴ ساعت توانایی مشابهی در کاهش BOD پساب کارخانه گلاب و عرق‌گیری گیاهی در زمان کوتاه نشان دادند. جوزف و همکاران توانایی باسیلوس‌ها را برای تجزیه ترکیب‌های حلقوی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که باسیلوس‌ها تا ۹۵٪ باعث تجزیه این ترکیب‌ها می‌شوند^[21]. در این مطالعه نیز باسیلوس‌ها با بازده نسبتاً کمتری (۷۱/۸۲-۶۴/۳۰٪) توانایی تجزیه ترکیبات را از خود نشان دادند.

شاریودین و دانشینی نشان دادند که *B. cereus* بیشترین توانایی را برای کاهش COD پساب شهری دارد و همچنین BOD پساب کارخانه قند را نیز ۶۲/۹٪ کاهش داده است^[17]. نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های مطالعه ذکرشده مشابهت دارد و سویه‌های K21 و K53 جداشده که از جنس باسیلوس تشخیص داده شدند، به ترتیب BOD را به میزان ۷۱/۸۲ و ۶۴/۳٪ کاهش دادند. همچنین این سویه‌ها COD را نیز به میزان ۵۶/۲-۵۶/۵٪ کاهش دادند.

شریواستاو و همکاران با جداسازی میکروارگانیسم‌ها از پساب فاضلاب شهری یامونای هند نشان دادند که *B. subtilis* به ترتیب با ۷۳/۹ و ۶۵٪ بیشترین توانایی را در کاهش COD و BOD از خود نشان دادند. همچنین در این مطالعه مشخص شد که کنسرسیوم دو سویه باکتری *B. subtilis* و *B. fusiformis* با کاهش ۷۷٪ BOD و ۹۴٪ COD بیشترین توانایی در کاهش این دو پارامتر را دارند^[19]. در مطالعه حاضر نیز کنسرسیوم سه سویه K21، K53 و K70 میزان BOD را ۷۶/۶٪ و کنسرسیوم چهار سویه K21، K53، K57 و K70 این میزان را ۸۳/۲۱٪ کاهش داد. اما نتایج کاهش COD کمتر از گزارش گروه پژوهشی یادشده است، به‌طوری‌که کنسرسیوم سه سویه K21، K53 و K70 میزان COD را ۵۷/۲۹٪ و کنسرسیوم چهار سویه K21، K53، K57 و K70 این میزان را ۳۸/۳۲٪ کاهش داد.

با توجه به اینکه سویه‌های جداسازی‌شده در این مطالعه، توانایی کاهش BOD و COD را دارند و کنسرسیوم باکتری‌ها نتایج بهتری نسبت به باکتری خالص نشان داده است، همچنین با افزایش تعداد باکتری‌ها در کنسرسیوم بازده افزایش یافت می‌توان نتیجه گرفت که با بهینه‌سازی شرایط محیطی میزان کارایی آنها افزایش می‌یابد. همچنین با انجام مطالعات بیشتر و استفاده از ابزارها و روش‌های مناسب می‌توان از این باکتری‌ها در تصفیه پساب‌های صنایع عرق‌گیری گیاهی استفاده کرد و ضمن جلوگیری از آلودگی محیط زیست، پساب تصفیه‌شده را برای مصارف مختلفی از جمله تامین آب کشاورزی یا صنایع دیگر به کار برد.

تشکر و قدردانی: نویسندگان از دانشگاه کاشان به دلیل حمایت برای انجام این مطالعه تشکر می‌کنند.

تأییدیه اخلاقی: کلیه محتویات علمی، نام و ترتیب نویسندگان، مورد تأیید همه نویسندگان است.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: محمد گودرزی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/

- 19- Shrivastava JN, Verma S, Kumar V. Bioremediation of Yamuna water by mono and dual bacterial isolates. *Ind J Sci Res Tech*. 2013;1(1):56-60.
- 20- Chaturvedi S, Chandra R, Rai V. Isolation and characterization of *Phragmites australis* (L.) rhizosphere bacteria from contaminated site for bioremediation of colored distillery effluent. *Ecol Eng*. 2006;27(3):202-7.
- 21- Joseph B, Ranjan Patra R, Lawrence R. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria associated with chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Int J Plant Prod*. 2012;1(2):141-52.

- water and wastewater. Rice EW, Bridgewater L, editors. 22nd Edition. Washington, D.C: American Publish Health Association; 2012.
- 16- Aslam Khan M, Rehman SU. Extraction and analysis of essential oil of *Rosa* species. *Int J Agric Biol*. 2005;7(6):973-4.
- 17- Sharpudin J, Darshini PP. Bioremediation of industrisl and municipal waste water using bacterial isolates. *Int J Eng Sci Res Technol*. 2016;5(5):173-7.
- 18- Naquvi KJ, Ansari SH, Ali M, Najmi AK. Volatile oil composition of *Rosa damascena* Mill.(Rosaceae). *J Pharmacogn Phytochem*. 2014;2(5):130-4.