

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست‌شناسی - میکروبیولوژی

کاربرد باکتری‌های تولید کننده بیوسورفکتانت در بهبود کیفیت کمپوست

استادان راهنما:

دکتر ایرج نحوی

دکتر سید حمید زرکش

استاد مشاور:

دکتر عبدالخالق بردبار

تعمیر مدرک  
از هیئت امضاءات مدرک علمی پدیا

پژوهشگر:

۱۳۸۸/۱۰/۲۷

غزاله جهانشاه

اسفند ماه ۱۳۸۷

۱۲۹۸۱۹

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات  
و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع این پایان‌نامه  
متعلق به دانشگاه اصفهان است.



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی میکروبیولوژی خانم  
غزاله جهان‌شاه تحت عنوان

**کاربرد باکتری‌های تولید کننده بیوسورفکتانت در بهبود کیفیت کمپوست**

در تاریخ ۱۳۸۷/۱۲/۱۴ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه عالی به تصویب نهایی رسید.

امضا

۱ - استاد راهنمای اول پایان نامه دکتر ایرج نحوی با مرتبه‌ی علمی استاد

امضا

۲ - استاد راهنمای دوم پایان نامه دکتر سید حمید زرکش با مرتبه‌ی علمی استادیار

امضا

۳ - استاد مشاور پایان نامه دکتر عبدالخالق بردبار با مرتبه‌ی علمی استاد

امضا

۴ - استاد داور داخل گروه دکتر زهرا اعتمادی‌فر با مرتبه‌ی علمی استادیار

امضا

۵ - استاد داور خارج از گروه دکتر حاجیه قاسمیان صفایی با مرتبه‌ی علمی دانشیار

مهر و امضای مدیر گروه

## با سپاس فراوان از:

استاد فرزانه‌ام، جناب آقای دکتر نحوی که این حاصل را مدیون رهنمودها، راهگشایی‌ها و حمایت‌های بی‌دریغ ایشان هستم.

همراهی و همکاری صمیمانه جناب آقای حنیف خداوردی در تمام مراحل انجام پژوهش.

زحمات جناب آقای دکتر زرکش و جناب آقای دکتر بردبار اساتید ارجمندم.

مدیریت، معاونان و مسئولین محترم کارخانه کمپوست اصفهان، به ویژه جناب آقای مهندس قنواتی، مهندس بارانی و مهندس میردامادیان که در مدت انجام پروژه از همکاری، معرفت و راهنمایی‌های ارزنده‌شان بهره بردم. همچنین از زحمات و محبت‌های بی‌دریغ جناب آقای عمرانی سپاسگذارم.

حسن همکاری و گره‌گشایی‌های آقایان دباغ، شفیعی و حسامی.

سرکار خانم دکتر اعتمادی‌فر و سرکار خانم دکتر قاسمیان صفایی که زحمت داوری این پایان‌نامه را پذیرفتند.

تمامی اساتید گران‌قدر گروه زیست‌شناسی به ویژه سرکار خانم دکتر امتیازی، سرکار خانم دکتر کرمانشاهی، جناب آقای دکتر زرکش، جناب آقای دکتر روغنیان و جناب آقای دکتر بوذری.

همه دوستان و همکلاسی‌های عزیزیم به خصوص خانم‌ها سروش، جناب، عروجعلیان، ولی‌زاده، میثمی و آقایان مرشدی، سجادی، شکری، گلابی و حسن‌شاهیان.

تقدیم به پدر و مادر عزیزم

و

تقدیم به یار و همراه همیشگی ام

همسرم حنیف

## چکیده

کمپوست یا کود آلی بقایای تخمیر شده‌ی زباله‌های شهری و یا زوائد زراعی و کشاورزی است که بی آن که زبانی برای خاک‌های کشاورزی داشته باشد، سبب حاصلخیزی و توان بیشتر آن می‌گردد. بیوسورفکتانت‌ها، متابولیت‌های میکروبی هستند، که سبب کاهش کشش سطحی و افزایش تجزیه زیستی می‌شوند. این تحقیق، به منظور بررسی تأثیر این ترکیبات بر بهبود کیفیت کود آلی انجام شد.

در این پژوهش، سویه‌های باکتریایی بومی کمپوست که از توانایی تولید بیوسورفکتانت برخوردار بودند، به روش‌های مختلف شامل بررسی همولیز بلاد آگار، انهدام قطره، گسترش لکه نفتی، آزمون امولسیون و در نهایت اندازه‌گیری کشش سطحی توسط دستگاه تنسیومتر، غربالگری شده و نهایتاً شناسایی آن‌ها تا حد جنس صورت گرفت. سویه‌های منتخب به جنس‌های *باسیلوس* و *استریپتومیسز* تعلق داشتند.

از آن‌جا که تولید بیوسورفکتانت در محیط کشت‌های ساختگی، برای استفاده در صنعت مقرون به صرفه نیست، از آب‌پنیر، برای رشد و تولید بیوسورفکتانت توسط سویه‌های جدا شده، استفاده گردید. سویه‌های *S*، *B* و *Sودوموناس آئروجینوزا* ATCC3027 به ترتیب کشش سطحی آب‌پنیر را از ۵۷/۸ به ۳۷/۶۲، ۳۸/۸۴ و ۳۵/۹۵ میلی‌نیوتن بر متر کاهش دادند.

تأثیر تلقیح سویه‌های تولید کننده بیوسورفکتانت، مایع رویی محیط کشت حاوی بیوسورفکتانت سویه‌های مذکور و کنسرسیون سویه‌های تولید کننده بیوسورفکتانت بر کیفیت کود آلی، از طریق مطالعه شاخص‌های کنترل کیفی کمپوست شامل آزمون‌های فیزیکی، شیمیایی، زیستی و میکروبی بررسی شد. در نهایت مشاهده شد، سویه‌های تولید کننده بیوسورفکتانت سبب افزایش جمعیت باکتری‌های کمپوست، کاهش کشش سطحی، افزایش تجزیه مواد آلی و کربن آلی، تسریع فرایند تثبیت و بلوغ کود آلی (کاهش نسبت آمونیوم به نیترات، افزایش درجه حرارت، کاهش سمیت کود آلی) و از همه مهمتر کاهش میزان پاتوژن‌ها می‌شود. مایع رویی حاوی بیوسورفکتانت نیز سبب بهبود کیفیت کود آلی نسبت به شاهد گردید، ولیکن این تأثیر به اندازه تأثیر سویه‌های مذکور مطلوب نبود. همکاری دو سویه *B* و *S* بر بهبود کیفیت کمپوست، مطلوب‌ترین نتیجه را در بر داشت.

امکان پاکسازی کود آلی از فلزات سنگین توسط مایع رویی حاوی سویه *B* جدا شده از کمپوست و *Sودوموناس آئروجینوزا* ATCC3027 نیز بررسی شده و مشخص شد مایع رویی حاوی بیوسورفکتانت سویه‌های فوق، قادر به ایجاد کاهش محسوسی در میزان فلزات سنگین کمپوست می‌باشد. برای مثال، سوپرناتانت ATCC3027 فلزات سنگین سرب، نیکل، کروم و کادمیوم، مس، روی و منگنز موجود در کود آلی را به ترتیب ۵۲، ۴۹، ۶۰، ۳۳، ۳۲، ۲۵ و ۲۲ درصد کاهش داد.

**واژگان کلیدی:** کمپوست، بیوسورفکتانت، کشش سطحی، سوپرناتانت

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
	فصل اول: مقدمه
۱	۱-۱- سورفکتانت‌ها و کشش سطحی.....
۱	۱-۱-۱- معرفی.....
۲	۱-۱-۲- خصوصیات سورفکتانت‌ها.....
۴	۲-۱- بیوسورفکتانت‌ها.....
۶	۳-۱- دسته‌بندی سورفکتانت‌ها و بیوسورفکتانت‌ها.....
۶	۱-۳-۱- دسته‌بندی سورفکتانت‌ها.....
۷	۲-۳-۱- دسته‌بندی بیوسورفکتانت‌ها.....
۸	۱-۲-۳-۱- گلیکولیپیدها.....
۸	۱-۱-۲-۳-۱- رامنولیپید.....
۹	۲-۱-۲-۳-۱- تره‌هالولیپید.....
۹	۲-۱-۲-۳-۱- سوفورولیپید.....
۹	۲-۲-۳-۱- لیپوپتیدها و لیپوپروتئین‌ها.....
۱۰	۳-۲-۳-۱- اسیدهای چرب، فسفولیپیدها و چربی‌های خنثی.....
۱۱	۴-۳-۳-۱- بیوسورفکتانت‌های پلیمری.....
۱۱	۵-۲-۳-۱- بیوسورفکتانت‌های ویژه.....
۱۲	۴-۱- عملکرد بیوسورفکتانت‌ها در تجزیه زیستی.....
۱۳	۵-۱- نقش‌های فیزیولوژیک بیوسورفکتانت.....
۱۳	۶-۱- بیوسنتز بیوسورفکتانت‌ها.....
۱۴	۷-۱- عوامل موثر بر تولید بیوسورفکتانت‌ها.....
۱۴	۱-۷-۱- منبع کربن.....
۱۴	۲-۷-۱- منبع نیتروژن.....
۱۴	۳-۷-۱- عوامل محیطی.....
۱۵	۱-۳-۷-۱- pH.....
۱۵	۲-۳-۷-۱- دما.....



- ۱-۷-۳-۳-همزنی ..... ۱۵
- ۱-۷-۳-۴-نمک ..... ۱۵
- ۱-۷-۳-۵-عوامل دیگر ..... ۱۵
- ۸-۱-سینتیک تولید فرمانتاتیو بیوسورفکتانت ..... ۱۶
- ۱-۸-۱-تولید وابسته به رشد ..... ۱۶
- ۲-۸-۱-تولید بیوسورفکتانت در شرایط محدود کننده رشد ..... ۱۶
- ۳-۸-۱-تولید بیوسورفکتانت توسط سلول‌های در حال استراحت یا سلول‌های تثبیت شده ..... ۱۷
- ۴-۸-۱-تولید بیوسورفکتانت از طریق افزودن پیش مواد ..... ۱۷
- ۹-۱-تولید بیوسورفکتانت‌ها از منابع ارزان قیمت ..... ۱۷
- ۱۰-۱-بازیافت بیوسورفکتانت‌ها ..... ۱۸
- ۱۱-۱-کاربردهای بیوسورفکتانت‌ها ..... ۲۱
- ۱-۱۱-۱-کاربرد بیوسورفکتانت‌ها در کشاورزی ..... ۲۲
- ۲-۱۱-۱-حذف آلاینده‌های هیدروکربنی ..... ۲۲
- ۳-۱۱-۱-بیوسورفکتانت‌ها و حذف فلزات سنگین ..... ۲۳
- ۴-۱۱-۱-کاربرد بیوسورفکتانت‌ها در فرآیند تهیه کمپوست ..... ۲۶
- ۱۲-۱-تاریخچه تولید کمپوست ..... ۲۷
- ۱۳-۱-کمپوست و کمپوست سازی ..... ۲۸
- ۱-۱۳-۱-اثرات کمپوست ..... ۲۸
- ۲-۱۳-۱-تولید کمپوست ..... ۲۹
- ۱-۲-۱۳-۱-روش‌های تولید کمپوست ..... ۲۹
- ۱-۲-۱۳-۱-سیستم‌های با زیر و رو کردن مواد ..... ۳۰
- ۱-۲-۱۳-۱-۱-روش توده‌های سطحی پشته‌ای یا ویندرو ..... ۳۰
- ۱۴-۱-مراحل تهیه کمپوست ..... ۳۲
- ۱-۱۴-۱-آماده سازی مواد خام ..... ۳۳
- ۱-۱-۱۴-۱-اقدامات اصلاحی ..... ۳۳
- ۲-۱۴-۱-تجزیه ..... ۳۴
- ۱-۲-۱۴-۱-تجزیه هوازی ..... ۳۵

۳۶	۱-۱۴-۲-۲- تجزیه بی‌هوازی
۳۷	۱-۱۴-۲-۳- انواع میکروارگانیسم‌های کمپوست
۳۸	۱-۱۴-۲-۳-۱- نقش گروه‌های مختلف میکروارگانیسم‌ها در مراحل تجزیه
۳۹	۱-۱۴-۳- رسیدن و بلوغ کمپوست
۴۰	۱-۱۴-۴- فراوری جهت عرضه به بازار
۴۰	۱-۱۵- کاربرد میکروارگانیسم‌های تولید کننده بیوسورفکتانت در بهبود کیفی کمپوست
۴۱	۱-۱۶- اهمیت و اهداف پژوهش

## فصل دوم: مواد و روش‌ها

۴۳	۲-۱- دستگاه‌های مورد استفاده
۴۵	۲-۲- وسایل مورد استفاده
۴۶	۲-۳- مواد مورد استفاده
۴۶	۲-۳-۱- مواد شیمیایی
۴۶	۲-۳-۱-۱- مواد شیمیایی معدنی
۴۸	۲-۳-۱-۲- مواد شیمیایی آلی
۴۹	۲-۳-۲- محلول‌ها و بافرهای مورد استفاده
۴۹	۲-۳-۲-۱- محلول‌های رنگ‌آمیزی روش گرم
۴۹	۲-۳-۲-۲- محلول‌های رنگ‌آمیزی اسپور
۵۰	۲-۳-۲-۳- بافر فسفات نمکی
۵۰	۲-۳-۲-۴- محلول رینگر
۵۰	۲-۳-۳- محیط کشت‌های مورد استفاده و روش تهیه آن‌ها
۵۰	۲-۳-۳-۱- محیط کشت نوترینت براث
۵۱	۲-۳-۳-۲- محیط کشت نوترینت آگار
۵۱	۲-۳-۳-۳- محیط کشت TSB
۵۱	۲-۳-۳-۴- محیط کشت لاکتوز براث
۵۱	۲-۳-۳-۵- محیط کشت EC-MUG
۵۲	۲-۳-۳-۶- محیط کشت آگار سالمونلا شیگلا

.....	۲-۳-۷- محیط کشت SIM	۵۲
.....	۲-۳-۸- محیط کشت آگار خون دار	۵۲
.....	۲-۳-۹- محیط کشت تخمیر قندها	۵۲
.....	۲-۳-۱۰- محیط کشت بوشنل- هاس	۵۳
.....	۲-۳-۱۱- محیط کشت تولید بیوسورفکتانت	۵۳
.....	۲-۳-۱۲- محیط کشت آب پنیر	۵۴
.....	۲-۴- میکروارگانیسم های مورد استفاده	۵۴
.....	۲-۵- روش های مورد استفاده	۵۴
.....	۲-۵-۱- نمونه بردای	۵۴
.....	۲-۵-۲- جداسازی و خالص سازی باکتری ها	۵۵
.....	۲-۵-۳- جداسازی سویه های تولید کننده بیوسورفکتانت	۵۶
.....	۲-۵-۳-۱- همولیز بلاد آگار	۵۶
.....	۲-۵-۳-۲- روش انهدام قطره	۵۷
.....	۲-۵-۳-۳- روش گسترش لکه نفت	۵۷
.....	۲-۵-۳-۴- آزمایش امولسیون	۵۷
.....	۲-۵-۳-۵- اندازه گیری کشش سطحی	۵۸
.....	۲-۵-۴- تولید بیوسورفکتانت	۵۹
.....	۲-۵-۵- استخراج بیوسورفکتانت	۵۹
.....	۲-۶- استفاده از آب پنیر به عنوان منبع ارزان قیمت برای تولید بیوسورفکتانت	۵۹
.....	۲-۶-۱- بررسی رشد و تولید بیوسورفکتانت در آب پنیر	۶۰
.....	۲-۶-۲- آماده سازی سوسپانسیون میکروبی برای تلقیح به کمپوست	۶۰
.....	۲-۷- بررسی تأثیر بیوسورفکتانت بر کیفیت کود آلی	۶۱
.....	۲-۷-۱- نمونه برداری از کود آلی	۶۱
.....	۲-۷-۲- تعیین محتوای رطوبت کود آلی	۶۲
.....	۲-۷-۳- تنظیم محتوای رطوبت کود آلی	۶۲
.....	۲-۷-۴- تیمارهای میکروبی برای تلقیح به کمپوست	۶۳
.....	۲-۷-۵- اندازه گیری درجه حرارت کود آلی	۶۴

۶۴	۶-۷-۲- تعیین جمعیت کل باکتری‌ها.....	۶۴
۶۴	۷-۷-۲- اندازه‌گیری کشش سطحی کمپوست.....	۶۴
۶۵	۸-۷-۲- اندازه‌گیری مواد آلی.....	۶۵
۶۵	۹-۷-۲- اندازه‌گیری کربن آلی.....	۶۵
۶۶	۱۰-۷-۲- اندازه‌گیری ازت کل به روش کج‌لدال.....	۶۶
۶۷	۱۱-۷-۲- محاسبه نسبت کربن به ازت.....	۶۷
۶۸	۱۲-۷-۲- اندازه‌گیری هدایت الکتریکی کمپوست.....	۶۸
۶۹	۱۳-۷-۲- اندازه‌گیری pH.....	۶۹
۶۹	۱۴-۷-۲- اندازه‌گیری عناصر کل موجود در کمپوست.....	۶۹
۶۹	۱-۱۴-۷-۲- هضم کمپوست با اسید نیتریک.....	۶۹
۷۱	۱۵-۷-۲- اندازه‌گیری میزان فسفر کودآلی.....	۷۱
۷۱	۱-۱۵-۷-۲- اندازه‌گیری فسفر به روش کالیمتری (رنگ زرد مولیبدات و انادات).....	۷۱
۷۲	۱۶-۷-۲- اندازه‌گیری کلر قابل جذب در کمپوست.....	۷۲
۷۳	۱۷-۷-۲- اندازه‌گیری سدیم قابل جذب در کمپوست.....	۷۳
۷۴	۱۸-۷-۲- اندازه‌گیری عناصر کم مقدار قابل جذب در کمپوست به روش DTPA.....	۷۴
۷۵	۱۹-۷-۲- اندازه‌گیری پتاسیم قابل جذب در کمپوست.....	۷۵
۷۶	۲۰-۷-۲- تعیین نسبت آمونیوم به نیترات.....	۷۶
۷۶	۱-۲۰-۷-۲- اندازه‌گیری ازت آمونیومی.....	۷۶
۷۸	۲-۲۰-۷-۲- اندازه‌گیری ازت نیتراته.....	۷۸
۷۸	۲۱-۷-۲- بررسی سرعت و قدرت جوانه‌زنی بذر در کمپوست.....	۷۸
۷۹	۲۲-۷-۲- بررسی تأثیر بیوسورفکتانت بر میزان پاتوژن‌های کمپوست.....	۷۹
۷۹	۱-۲۲-۷-۲- شمارش سالمونلا بر روی محیط کشت SS آگار.....	۷۹
۸۰	۲-۲۲-۷-۲- شمارش کلی‌فرم‌های کل و مدفوعی به روش MPN.....	۸۰
۸۰	۸-۲- امکان سنجی پاکسازی کودآلی از فلزات سنگین.....	۸۰
۸۱	۹-۲- شناسایی بهترین سوبیه‌های جداسازی شده.....	۸۱
۸۱	۱-۹-۲- ریخت‌شناسی کلنی‌ها بر روی محیط نوترینت آگار.....	۸۱
۸۱	۲-۹-۲- واکنش گرم و ریخت‌شناسی باکتری‌ها.....	۸۱

۸۲	۳-۹-۲- رنگ آمیزی اختصاصی اسپور.....
۸۲	۴-۹-۲- آزمون کاتالاز.....
۸۲	۵-۹-۲- آزمون اکسیداز.....
۸۲	۶-۹-۲- تخمیر گلوکز.....
۸۳	۷-۹-۲- آزمون حرکت.....
۸۳	۸-۹-۲- آزمون تولید $H_2S$ .....
۸۳	۹-۹-۲- آزمون تولید اندول.....

## فصل سوم: نتایج

۸۴	۱-۳- نتایج حاصل از جداسازی، خالص سازی و تولید بیوسورفکتانت سویه ها.....
۸۹	۲-۳- استفاده از آب پنیر به عنوان منبع ارزان قیمت برای تولید بیوسورفکتانت.....
۸۹	۱-۲-۳- بررسی رشد و تولید بیوسورفکتانت در آب پنیر.....
۹۰	۳-۳- آنالیز شیمیایی کود نرم.....
۹۱	۴-۳- بررسی تأثیر بیوسورفکتانت بر کیفیت کود آلی.....
۹۱	۱-۴-۳- اندازه گیری درجه حرارت کود آلی.....
۹۲	۲-۴-۳- تعیین جمعیت کل باکتری ها.....
۹۳	۳-۴-۳- اندازه گیری کشش سطحی کمپوست.....
۹۴	۴-۴-۳- اندازه گیری مواد آلی.....
۹۵	۵-۴-۳- محاسبه نسبت کربن به ازت.....
۹۶	۶-۴-۳- اندازه گیری هدایت الکتریکی کمپوست.....
۹۷	۷-۴-۳- اندازه گیری pH.....
۹۸	۸-۴-۳- اندازه گیری عناصر کل موجود در کمپوست.....
۹۸	۱-۸-۴-۳- اندازه گیری میزان فسفر کود آلی.....
۹۸	۱-۱-۸-۴-۳- منحنی استاندارد.....
۱۰۰	۲-۸-۴-۳- اندازه گیری کلر، سدیم و پتاسیم قابل جذب در کمپوست.....
۱۰۳	۳-۸-۴-۳- اندازه گیری عناصر کم مقدار قابل جذب در کمپوست به روش DTPA.....
۱۰۴	۹-۴-۳- تعیین نسبت آمونیوم به نیترات.....

۱-۹-۴-۳- منحنی استاندارد.....	۱۰۴
۱۰-۴-۳- بررسی سرعت و قدرت جوانه‌زنی بذر در کمپوست.....	۱۰۵
۱۱-۴-۳- بررسی تأثیر بیوسورفکتانت بر میزان پاتوژن‌های کمپوست.....	۱۰۸
۱-۱۱-۴-۳- شمارش سالمونلا و کلی‌فرم‌های کل و مدفوعی.....	۱۰۸
۵-۳- امکان سنجی پاکسازی کودآلی از فلزات سنگین.....	۱۰۹
۶-۳- شناسایی بهترین سویه‌های باکتریایی جداسازی شده.....	۱۱۲
۱-۶-۳- مورفولوژی کلنی‌ها در محیط نوترینت آگار.....	۱۱۲
۲-۶-۳- واکنش گرم، ریخت‌شناسی و آزمون‌های بیوشیمیایی.....	۱۱۳

## فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری

۱-۴- جداسازی سویه‌های تولید کننده بیوسورفکتانت.....	۱۱۴
۲-۴- تولید بیوسورفکتانت در محیط کشت آب‌پنیر.....	۱۱۶
۳-۴- بررسی تأثیر بیوسورفکتانت بر کیفیت کودآلی.....	۱۱۷
۱-۳-۴- تغییرات درجه حرارت کودآلی در تیمارهای مختلف.....	۱۱۷
۲-۳-۴- تأثیر تیمارهای مختلف بر جمعیت کل باکتری‌های کمپوست.....	۱۱۸
۳-۳-۴- تغییرات کشت سطحی کمپوست در تیمارهای مختلف.....	۱۱۸
۴-۳-۴- تأثیر تیمارهای مختلف در تجزیه مواد آلی کمپوست.....	۱۱۹
۵-۳-۴- تغییرات نسبت کربن به ازت.....	۱۲۰
۶-۳-۴- تغییرات هدایت الکتریکی کمپوست در تیمارهای مختلف.....	۱۲۱
۷-۳-۴- تغییرات pH در تیمارهای مختلف.....	۱۲۱
۸-۳-۴- تأثیر تیمارهای مختلف بر عناصر کل موجود در کمپوست.....	۱۲۲
۹-۳-۴- تعیین نسبت آمونیوم به نترات.....	۱۲۳
۱۰-۳-۴- بررسی تأثیر تیمارهای مختلف بر سرعت و قدرت جوانه‌زنی بذر در کمپوست.....	۱۲۳
۱۱-۳-۴- بررسی تأثیر بیوسورفکتانت بر میزان پاتوژن‌های کمپوست.....	۱۲۵
۴-۴- امکان سنجی پاکسازی کودآلی از فلزات سنگین.....	۱۲۷
نتیجه‌گیری کلی.....	۱۲۹
پیشنهادات.....	۱۳۰
منابع و مأخذ.....	۱۳۱

## فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل (۱-۱) ساختار میسل، وزیکول و دولایه سورفکتانت	۳
شکل (۲-۱) تغییر قابلیت انحلال، کشش سطحی و بین سطحی در اثر افزایش غلظت سورفکتانت	۴
شکل (۳-۱) ساختمان مولکولی رامنولپید، تره‌ها لولپید و سوفورولپید	۹
شکل (۴-۱) ساختار سورفکتین تولید شده توسط باسیلوس سابتیلیس	۱۰
شکل (۵-۱) ساختمان فسفاتیدیل اتانل آمین، یک بیوسورفکتانت قوی که توسط اسینتوباکتر تولید می‌شود	۱۱
شکل (۶-۱) امولسان. بیوسورفکتانت تولید شده توسط اسینتوباکتر کالکواستیکوس	۱۲
شکل (۷-۱) جایگاه‌های اتصال به فلزات در بیوسورفکتانت‌های رامنولپید و سورفکتین	۲۴
شکل (۸-۱) مکانیسم جذب فلز توسط بیوسورفکتانت	۲۵
شکل (۹-۱) اولترافیلتراسیون کمپلکس‌های سورفکتانت-آلاینده (هیدروکربن و فلز)	۲۵
شکل (۱۰-۱) روش‌های مختلف تهیه کود به روش هوازی	۳۰
شکل (۱۱-۱) مراحل تهیه کمپوست در کارخانه کود آلی اصفهان	۳۲
شکل (۱۲-۱) مراحل آماده‌سازی مواد خام	۳۳
شکل (۱-۲) دستگاه تنسیومتر	۵۸
شکل (۲-۲) کیسه‌های حاوی کمپوست و تیمارهای میکروبی	۶۲
شکل (۳-۲) دستگاه جذب اتمی	۷۰
شکل (۱-۳) تعداد سویه‌های مثبت تولید کننده بیوسورفکتانت در روش‌های مختلف	۸۵
شکل (۲-۳) آزمون گسترش لکه نفتی. هاله ایجاد شده در سطح نفت توسط سویه B	۸۷
شکل (۳-۳) آزمون انهدام قطره	۸۸
شکل (۴-۳) آزمون امولسیون. سویه B	۸۸
شکل (۵-۳) آزمون امولسیون. س. آئروجینوزا ATCC 3027	۸۸
شکل (۶-۳) آزمون امولسیون. سویه S	۸۸
شکل (۷-۳) آزمون امولسیون. شاهد (آب مقطر)	۸۸
شکل (۸-۳) تغییرات درجه حرارت در طول انجام پژوهش در تیمارهای مختلف	۹۱
شکل (۹-۳) تغییرات تعداد باکتری‌ها در تیمارهای مختلف	۹۲
شکل (۱۰-۳) تغییرات کشش سطحی در تیمارهای مختلف	۹۳
شکل (۱۱-۳) تغییرات درصد مواد آلی در طول زمان انجام پژوهش	۹۴

- شکل ۳-۱۲) تغییرات هدایت الکتریکی در طول انجام پژوهش در تیمارهای مختلف..... ۹۶
- شکل ۳-۱۳) تغییرات pH در طول انجام پژوهش در تیمارهای مختلف ..... ۹۷
- شکل ۳-۱۴) منحنی استاندارد سری رقت‌های ۲ تا ۲۰ میلی‌گرم  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  در لیتر آب مقطر ..... ۹۸
- شکل ۳-۱۵) منحنی استاندارد سری رقت‌های ۱ تا ۱۵ میلی‌گرم کلرید آمونیوم در لیتر آب مقطر ..... ۱۰۴
- شکل ۳-۱۶) مقایسه درصد کاهش فلزات سنگین بعد از تیمارهای مختلف..... ۱۱۱
- شکل ۳-۱۷) مقایسه میزان فلزات سنگین حذف شده بعد از تیمارهای مختلف ..... ۱۱۲



## فهرست جدول‌ها

صفحه	عنوان
۵.....	جدول (۱-۱) بیوسورفکتانت‌های تولید شده توسط میکروارگانسیم‌ها
۱۹.....	جدول (۲-۱) ترکیبات تشکیل دهنده آب‌پنیر اسیدی و شیرین
۲۰.....	جدول (۳-۱) روش‌های بازیافت بیوسورفکتانت‌های مختلف
۲۳.....	جدول (۴-۱) عملکردها و زمینه‌های کاربردی بیوسورفکتانت به عنوان یک ماده اختصاصی
۴۲.....	جدول (۵-۱) استانداردهای ارائه شده کمپوست، توسط WHO و EPA در ایران
۶۳.....	جدول (۱-۲) تیمارهای میکروبی برای تلقیح به کمپوست
۸۶.....	جدول (۱-۳) نتایج بررسی تولید بیوسورفکتانت توسط روشهای مختلف
۸۷.....	جدول (۲-۳) کشش سطحی سوبیه‌های تولید کننده بیوسورفکتانت در محیط "بوشنل-هاس" حاوی گلوکز
۸۹.....	جدول (۳-۳) نتایج اندازه‌گیری کشش سطحی سوبیه‌های تولید کننده بیوسورفکتانت در آب پنیر
۹۰.....	جدول (۴-۳) خصوصیات شیمیایی کود نرم مورد استفاده در پژوهش
۹۰.....	جدول (۵-۳) نتایج آنالیز میکروبی کود نرم مورد استفاده در پژوهش
۹۵.....	جدول (۶-۳) نسبت نهایی کربن به ازت
۹۹.....	جدول (۷-۳) مقادیر نهایی فسفر کل موجود در نمونه‌های کمپوست
۹۹.....	جدول (۸-۳) مقادیر نهایی پتاسیم کل موجود در نمونه‌های کمپوست
۱۰۰.....	جدول (۹-۳) مقادیر نهایی مواد مغذی موجود در نمونه‌های کمپوست
۱۰۱.....	جدول (۱۰-۳) مقدار کلر قابل جذب در تیمارهای مختلف
۱۰۱.....	جدول (۱۱-۳) مقدار سدیم قابل جذب در تیمارهای مختلف
۱۰۲.....	جدول (۱۲-۳) مقدار پتاسیم قابل جذب در تیمارهای مختلف
۱۰۳.....	جدول (۱۳-۳) میزان عناصر کم مقدار در تیمارهای مختلف
۱۰۵.....	جدول (۱۴-۳) نسبت آمونیوم به نترات در نمونه‌های کمپوست نهایی
۱۰۶.....	جدول (۱۵-۳) نتایج آزمون جوانه‌زنی گیاه در عصاره کمپوست
۱۰۷.....	جدول (۱۶-۳) نتایج اندازه‌گیری طول بذرهای جوانه‌زده
۱۰۸.....	جدول (۱۷-۳) تعداد سالمونلا و کلی‌فرم‌های کل و مدفوعی نمونه‌های کمپوست
۱۰۸.....	جدول (۱۸-۳) متوسط میزان فلزات سنگین موجود در کمپوست تیمار شده با مایع رویی محیط کشت س. آئروجنوزا ATCC 3027
۱۰۹.....	

جدول ۳-۱۹) متوسط میزان فلزات سنگین موجود در کمپوست تیمار شده با مایع رویی محیط کشت سویه B	۱۱۰
جدول ۳-۲۰) متوسط میزان فلزات سنگین موجود در کمپوست تیمار شده با آب مقطر	۱۱۰
جدول ۳-۲۱) نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی گرم و تست‌های کاتالاز، تخمیر گلوکز، حرکت، تولید $H_2S$ و تولید اندول برای بهترین سویه‌های باکتریایی تولید کننده بیوسورفکتانت	۱۱۳

## فصل اول

### ۱- مقدمه و مروری بر منابع

#### ۱-۱- سورفکتانت‌ها و کشش سطحی

##### ۱-۱-۱- معرفی

واژه‌ی **Surfactants** از سه واژه **Surface Active Agents** به معنای "عوامل فعال در سطح" اقتباس شده است. سورفکتانت‌ها مولکول‌هایی دوگانه دوست<sup>۱</sup> هستند که از دو بخش آبدوست<sup>۲</sup> و آبگریز<sup>۳</sup> (غالباً هیدروکربنی) تشکیل شده‌اند. به بخش آبدوست، سر<sup>۴</sup> و به بخش آبگریز، دم<sup>۵</sup> نیز اطلاق می‌شود (Banat et al., 2002). سورفکتانت‌ها معمولاً در حد فاصل دو فاز با قطبیت متفاوت مانند روغن-آب یا هوا-آب قرار می‌گیرند. این ویژگی باعث کاهش کشش سطحی<sup>۶</sup> و بین سطحی<sup>۷</sup> مایعات شده، و سبب تشکیل میکروامولسیون می‌گردد؛ لذا هیدروکربن‌های نامحلول در آن محلول می‌گردند. علاوه بر این‌ها، خصوصیات پاک‌کنندگی، امولسیون‌سازی، کف‌کنندگی و پراکنده‌کنندگی سورفکتانت‌ها، به همان ویژگی مذکور مربوط می‌شود (Christofi and Ivshina, 2002).

---

<sup>1</sup>. Amphipathic  
<sup>2</sup>. Hydrophilic  
<sup>3</sup>. Hydrophobic  
<sup>4</sup>. Head  
<sup>5</sup>. Tail  
<sup>6</sup>. Surface tension  
<sup>7</sup>. Interfacial tension

### ۱-۱-۲- خصوصیات سورفکتانت‌ها

اغلب سورفکتانت‌های موجود از مشتقات نفت می‌باشند. کشش سطحی آب مقطر حدود ۷۲ میلی‌نیوتن بر متر<sup>۱</sup> است؛ سورفکتانت قادر است این مقدار را تا حدود ۲۷ میلی‌نیوتن بر متر کاهش دهد. برای هر سورفکتانت حد غلظتی در فاز آبی وجود دارد با عنوان "غلظت بحرانی تشکیل میسل (CMC)"<sup>۲</sup>. چنانچه غلظت یک سورفکتانت به این حد بحرانی برسد، یا از این حد فراتر رود، تشکیل میسل می‌دهد (Banat et al., 2002)؛ که در این غلظت دیگر کاهش در کشش سطحی و بین سطحی مشاهده نمی‌شود (شکل ۱-۲). سورفکتانت‌ها در غلظت‌های پایین به صورت مولکول‌های منفرد یا یون در محلول پراکنده اند. با افزایش غلظت، مقادیر اضافی سورفکتانت به صورت میسل<sup>۳</sup>، وزیکول<sup>۴</sup> و یا ساختارهای دو لایه<sup>۵</sup> تجمع می‌یابند. نوع و اندازه‌ی ساختار تشکیل تشکیل شده بستگی به ساختار سورفکتانت و pH محلول دارد. کوچکترین ساختمان‌های پایه‌ای تشکیل شده، میسل‌ها هستند که قطرشان کمتر از ۵ نانومتر است. در میسل‌ها، سرهای قطبی به سمت محیط آبی و دم‌های غیر قطبی به سمت مرکز آب‌گریز میسل جهت یافته‌اند (شکل ۱-۱). وزیکول‌ها ساختارهایی به قطر ۱۰ نانومتر تا بیش از ۵۰۰ نانومتر می‌باشند که از دو لایه مولکول سورفکتانت تشکیل شده‌اند. سرهای قطبی سورفکتانت‌های دو لایه به سمت محیط و دم‌های غیر قطبی بین سرها تمرکز یافته‌اند، به گونه‌ای که داخل و خارج یک وزیکول آب-دوست بوده و قسمت دو لایه درونی آب‌گریز می‌باشد (شکل ۱-۱). بزرگترین ساختار سورفکتانت‌ها دو لایه‌ها می‌باشند که محدودیتی در اندازه‌شان وجود ندارد. دو لایه‌ها صفحاتی مسطح و انعطاف پذیرند که اگر بین سطوح، برای مثال گاز-مایع یا مایع-مایع قرار گیرند خصوصیات نامتقارنی از خود نشان می‌دهند (Miller, 1995). شکل ۱-۲ نشان دهنده چگونگی تغییر خصوصیات فیزیکی با افزایش غلظت سورفکتانت می‌باشد.

<sup>۱</sup> . mN.m<sup>-1</sup>

<sup>۲</sup> . Critical Micelle Concentration (CMC)

<sup>۳</sup> . Micelles

<sup>۴</sup> . Vesicle

<sup>۵</sup> . Bilayers