

به کارگیری باکتری اکتینومایست استخراج شده از خاک به منظور تولید بیواتانول از پسماند صنایع لبنی

مریم حلوایی^{۱*}، طه‌ورا نوابی^۲، محیا محمدجعفری^۳ - متینه جلائیان^۴

۱- مریم حلوایی Halvaiy1978@gmail.com

۲- طه‌ورا نوابی tahooranavabi20@gmail.com

۳- محیا محمدجعفری 2008mahya@gmail.com

۴- متینه جلائیان Matinehjalaeyan3@gmail.com

خلاصه

با توجه به بحران های زیست محیطی ناشی از مصرف فزاینده سوخت های فسیلی، لزوم استفاده از منابع تجدیدپذیر بیش از پیش احساس می شود. هدف اصلی این پژوهش، بررسی امکان تولید بیواتانول از باکتری اکتینومایست در محیطی حاصل از پساب لبنی و ارزیابی میزان کارایی این روش در کاهش آلودگی های زیست محیطی و بهره برداری بهینه از منابع دورریز است. برای این منظور، نمونه برداری از خاک چهار بوستان شهری تهران انجام شد و پس از خالص سازی و تأیید نهایی گونه باکتری به وسیله تست های آزمایشگاهی نظیر رنگ آمیزی گرم و PCR، فاز اصلی تخمیر آغاز گردید. در این مرحله، از آب پنیر استریل شده به عنوان منبع تغذیه ای و محیط کشت استفاده شد. با فراهم سازی شرایط بی هوازی، باکتری اکتینومایست شروع به ترشح آنزیم هایی نمود که ابتدا پروتئین های موجود در پساب را به آمینواسید و سپس به قندهایی نظیر گلوکز تجزیه کردند. گلوکز حاصل، در مسیر تخمیر بیوشیمیایی به اتانول و کربن دی اکسید تبدیل شد. بررسی های کیفی همچون آزمون شعله پذیری و بوی خاص اتانول، تولید موفق این سوخت زیستی را تأیید کرد. نتایج به دست آمده نشان داد که می توان با استفاده از باکتری های بومی خاک و پسماندهای صنایع غذایی، به تولید انرژی پاک دست یافت؛ روشی که از نظر اقتصادی مقرون به صرفه است و هم به حفاظت از محیط زیست کمک می کند.

کلید واژه: باکتری، سوخت زیستی، محیط زیست، آلودگی زیستی، سوخت فسیلی، سوخت پاک

۱. مقدمه

افزایش مصرف سوخت‌های فسیلی به یکی از چالش‌های اساسی زیست‌محیطی تبدیل شده است. استفاده گسترده از این منابع باعث افزایش انتشار گازهای گلخانه‌ای، از جمله CO_2 ، شده که نقش مهمی در تغییرات اقلیمی و گرمایش جهانی دارد. بر اساس بررسی‌های انجام‌شده، مصرف نفت، گاز و بنزین در چند دهه اخیر رشد چشمگیری داشته و در نتیجه، میزان انتشار دی‌اکسید کربن افزایش یافته که تأثیرات مخربی بر محیط زیست، سلامت انسان‌ها و حیات وحش دارد [۱]. علاوه بر این، گرمایش جهانی باعث افزایش دمای زمین بین ۱.۴ تا ۵.۸ درجه سلسیوس تا سال ۲۱۰۰ خواهد شد، که این تغییرات می‌تواند اکوسیستم‌های طبیعی را نابود کرده و بحران‌های زیست‌محیطی را تشدید کند [۲].

برای کاهش اثرات مخرب سوخت‌های فسیلی، کشورها به سمت انرژی‌های تجدیدپذیر مانند انرژی خورشیدی، بادی، و زیست‌گاز حرکت کرده‌اند [۳]. در برخی کشورها، توسعه واحدهای زیست‌گاز از پسماندهای شهری و کشاورزی توانسته بخشی از انرژی مورد نیاز را تأمین کرده و در عین حال، مشکلات زیست‌محیطی را کاهش دهد [۴]. همچنین، سیاست‌های جایگزینی گاز طبیعی به جای سوخت‌های فسیلی پراکنده در برخی مناطق اجرا شده است، اما به دلیل محدودیت‌های عرضه، این روش در بلندمدت پایدار نیست [۱]. اصلاح یارانه‌های انرژی و توسعه فناوری‌های بهینه‌سازی مصرف سوخت از دیگر اقداماتی است که برای کنترل آلودگی و کاهش وابستگی به سوخت‌های فسیلی در نظر گرفته شده است [۱].

در این مقاله تلاش شده با بهره‌برداری باکتری اکتینومایست از خاک و جداسازی این باکتری قابل‌دسترس، همراه با استفاده از پساب کارخانجات لبنی و پروتئینی، بیواتانول تولید شود. استفاده از این روش می‌تواند به کاهش آلودگی محیط‌زیست کمک کرده و یک منبع پایدار انرژی ایجاد کند. پساب صنایع لبنی و پروتئینی دارای ترکیبات آلی مناسبی برای تخمیر میکروبی است که می‌تواند به تولید بیواتانول منجر شود. این فرآیند علاوه بر مدیریت پسماند صنعتی، موجب کاهش وابستگی به سوخت‌های فسیلی و کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای خواهد شد.

استفاده از بیواتانول به عنوان یک سوخت زیستی می‌تواند تأثیرات مثبتی بر محیط زیست و کاهش آلودگی هوا داشته باشد. این سوخت جایگزین، برخلاف سوخت‌های فسیلی، انتشار کربن کمتری دارد و به کاهش گازهای گلخانه‌ای کمک می‌کند [۴]. همچنین، استفاده گسترده از بیواتانول می‌تواند وابستگی به منابع فسیلی را کاهش داده و امنیت انرژی را افزایش دهد [۳]. جامعه هدف این فناوری شامل صنایع حمل و نقل، مناطق روستایی و کشورهایی است که به دنبال منابع پایدار انرژی هستند. در صورت جایگزینی بیواتانول با سوخت‌های فسیلی، علاوه بر کاهش آلاینده‌های زیست‌محیطی، میزان مصرف انرژی خانوارهای روستایی و شهری نیز به طور قابل توجهی کاهش خواهد یافت [۴].

امروزه، نفت به عنوان منبع سوخت در صنایع مختلف، نقشی بس گسترده و حیاتی ایفا می‌کند. لیکن، این ماده ارزشمند می‌تواند در صنعت پتروشیمی به فراورده‌هایی با اهمیت فراوان تبدیل گردد. با این حال، در حال حاضر بخش قابل توجهی از نفت صرفاً به عنوان سوخت مورد استفاده قرار می‌گیرد. بدین سبب، ما در پی آن هستیم که با به کارگیری روش‌های نوین، مقرون به صرفه، ساده، در دسترس و ایمن، مصرف نفت را به عنوان سوخت کاهش دهیم.

اصطلاح سوخت زیستی به عنوان سوخت‌های جامد، مایع و گازی که به طور عمده از بیومس (زیست‌توده) تولید می‌شوند، اتلاق می‌گردد. مزایای سوخت‌های زیستی شامل پایداری، کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای، توسعه منطقه‌ای و ایجاد اشتغال برای روستاییان، کاهش وابستگی به واردات سوخت‌های فسیلی و امنیت تولید انرژی می‌باشند [۵]. از نظر اجتماعی و اقتصادی، سوخت‌های زیستی فرصت‌های شغلی زیادی به‌ویژه در مناطق روستایی ایجاد می‌کنند و توسعه اقتصادی را تقویت می‌کنند. همچنین، با کاهش وابستگی به سوخت‌های وارداتی، امنیت انرژی افزایش می‌یابد. پیشرفت‌های تکنولوژیکی در تولید سوخت‌های زیستی نسل جدید، که از منابع غیرغذایی تولید می‌شوند، راه‌حلی برای مشکلات مرتبط با تولید مواد غذایی و کاربرد زمین ارائه می‌دهند و استفاده از این سوخت‌ها را اقتصادی‌تر می‌کند [۴]. این پژوهش تلاشی است برای بهره‌گیری از ظرفیت‌های بومی به منظور کاهش آلودگی و دستیابی به انرژی پایدار.

بابک بابائی و همکاران در مقاله‌ی «امکان تولید چغندر قند از کشت پاییزه» به ضرورت استفاده از اتانول به جای سوخت‌های فسیلی یا اختلاط آن در کاهش آلودگی زیست‌محیطی اشاره کرده‌اند. این ضرورت موجب شده است تا تولید بیواتانول از ۵۰ میلیون مترمکعب در سال ۲۰۰۷ به ۸۵ میلیون مترمکعب در سال ۲۰۱۲ افزایش یابد. این مطالعه با هدف مقایسه‌ی قیمت تمام‌شده‌ی بیواتانول از چغندر قند نسبت به سایر محصولات کشاورزی، همچنین مقایسه‌ی اقتصادی تولید اتانول از واحد سطح چغندر قند بهاره و پاییزه و برآورد سرمایه‌ی لازم جهت احداث واحد صنعتی تولید بیواتانول از چغندر قند انجام شده است. [۶]. سیده فاطمه حسینی و همکاران در «تولید بیواتانول با استفاده از جلبک‌ها» به بررسی کاربرد منابع جدید برای تولید سوخت‌های زیستی پرداخته‌اند. جلبک‌ها به‌عنوان منابع مهم گلوکزی سلولزی و لیگنوسلولزی شناخته می‌شوند که می‌توانند ظرفیت‌های بالایی برای تولید اتانول از خود نشان دهند. این تحقیق به ارزیابی روند تولید بیواتانول از منابع مختلف جلبکی پرداخته و نشان داده که استفاده از جلبک‌ها به‌عنوان مواد اولیه برای تولید سوخت اتومبیل می‌تواند راهکار مؤثری برای حل مشکل آلودگی محیط زیست باشد. [۷]. مجتبی محسینی و همکاران در «جداسازی، شناسایی و بهینه‌سازی باکتری‌های تولیدکننده اتانول» از فرآیند تخمیر با پایه ساکارومیسس در صنایع الکلسازی ایران به بررسی‌های مختلف پرداخته‌اند. این تحقیق به شناسایی باکتری‌های تولیدکننده اتانول از منابع مختلف پرداخته و به تحلیل فرآیندهای مختلف تخمیر و بهینه‌سازی شرایط تولید اتانول تمرکز داشته است [۸].

مواد و روش‌ها:

به‌منظور جداسازی باکتری‌های مفید، فرآیند نمونه‌برداری از چهار بوستان مختلف در استان تهران با رعایت اصول استاندارد زیست‌محیطی صورت پذیرفت. نمونه‌ها از عمق ده سانتی‌متری خاک برداشت شدند. سپس ۱۴ گرم از هر نمونه توزین و با ۱۴rpm میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ترکیب گردید. محلول به‌مدت ۳۴ دقیقه در دمای ۳۴ درجه سانتی‌گراد و با دور ۱۶۴ در شیکر انکوباتور قرار داده شد تا باکتری‌ها از ذرات خاک جدا شوند. برای آماده‌سازی محیط کشت مناسب، ابتدا ۷ گرم پودر اختصاصی محیط کشت وزن شده و با ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید (شکل ۱).



شکل ۱

این ترکیب بر روی حرارت ملایم و با هم‌زدنی پیوسته حرارت داده شد تا محلولی یکنواخت حاصل شود (شکل ۲).



شکل ۲

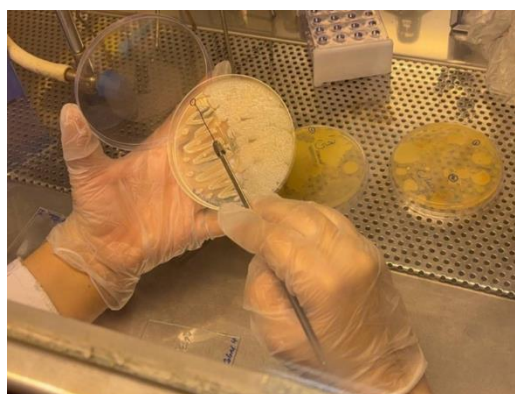


سپس محلول به ارلن منتقل شد، درپوش آن با پنبه پوشانده شده و با فویل آلومینیومی مسدود گردید. ارلن در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت در دستگاه اتوکلاو استریل شد. پس از کاهش دما تا حدود ۴۵ تا ۵۰ درجه، محیط کشت در شرایط استریل به پلیت‌های پتری منتقل شده و تا جامد شدن کامل رها گردید. در این مرحله مایع رویی حاصل از فرآیند سانتریفیوژ، به وسیله سوآب برداشته شد و به روش چمنی بر روی محیط کشت پتری‌دیش‌های استریل شده منتقل گردید (شکل ۳).



شکل ۳

پلیت‌ها در کیسه نایلونی قرار گرفته و به منظور تأمین شرایط گرمایی، در موتورخانه مدرسه جای گذاری شدند. پس از چهار



شکل ۴

هفته، کلنی‌هایی از باکتری‌های اکتینومایست قابل مشاهده بود. این کلنی‌ها برای خالص سازی به روش نقطه‌ای مجدد کشت داده شدند (شکل ۴)

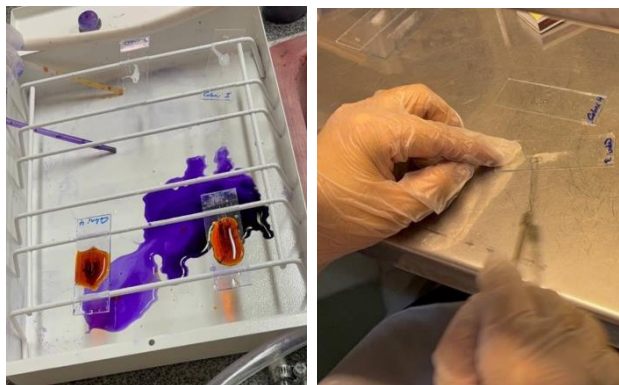


www.bc.bcnf.ir

9th National Conference on
Innovation and Technology
in Biology and Chemistry
of I R A N

نهمین کنفرانس ملی
نوآوری و فناوری
علوم زیستی و
شیمی ایران

نمونه‌های به‌دست‌آمده، پس از گذشت ۷۲ ساعت، با استفاده از لوپ جمع‌آوری شده و به‌منظور تشخیص دقیق، رنگ‌آمیزی گرم بر روی آن‌ها انجام گرفت (شکل ۵ و ۶).



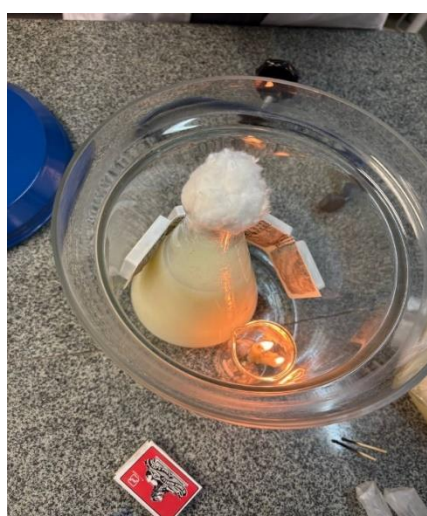
شکل ۵ و ۶

نمونه‌هایی که ویژگی‌های باکتری اکتینومایست را نشان می‌دادند، برای تأیید نهایی به مرحله PCR ارسال شدند. پس از اطمینان از نوع باکتری، وارد فاز اصلی پژوهش شدیم. در این مرحله، از آب‌پنیر که از پساب کارخانجات لبنی استخراج شده و به‌عنوان منبعی سرشار از مواد مغذی برای رشد میکروارگانیسم‌ها شناخته می‌شود، استفاده گردید. آب‌پنیر، به‌منظور استریل‌سازی و حذف ناخالصی‌ها، از فیلتر سرسنگی با قطر منافذ ۰.۴ میکرومتر عبور داده شد (شکل ۷).



شکل ۷

در ادامه باکتری اکتینومایست به محیط آبپنیر تلقیح گردید. ارلن‌ها با پنبه مسدود شده و در جار بی‌هوازی قرار داده شدند. در کنار ارلن‌ها گازپک نیز برای حذف اکسیژن محیط تعبیه شد تا شرایط بی‌هوازی کامل فراهم گردد (شکل ۸).



شکل ۸

پس از گذشت یک هفته، جارها باز شده پنبه از دهانه ارلن‌ها برداشته شد برای بررسی موفقیت‌آمیز بودن این فرآیند، از تست‌های کیفی تولید الکل بهره گرفته شد. شعله‌ور شدن نمونه تخمیری در مجاورت شعله چراغ الکلی و انتشار بوی مشخص اتانول، دلیلی روشن بر موفقیت این واکنش زیستی و تولید بیواتانول توسط باکتری‌های جدا شده از خاک‌های شهری بود (شکل ۹).



شکل ۹

و در نهایت تست جونز جهت تایید الکل تولید شده انجام گردید و نتایج دال بر تولید بیواتانول از باکتری اکتینومایست می باشد

. نتایج و بحث

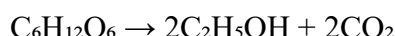
پژوهش حاضر با هدف تولید سوخت زیستی بیواتانول از باکتری اکتینومایست در محیط پساب کارخانجات لبنی، گامی نو و کاربردی در عرصه انرژی های تجدیدپذیر برداشت. در جریان این تحقیق، روشن شد که باکتری اکتینومایست که به طور طبیعی در اغلب خاک های ایران حضور دارد، با قدرت و کارآمدی توانایی انجام فرآیند تخمیر الکلی را داراست؛ آن هم در محیطی ساده، ارزان و برگرفته از پسماند صنعتی. این نکته، خود یکی از دستاوردهای مهم پروژه است که مسیر تولید بیواتانول را از وابستگی به محیط های آزمایشگاهی پیشرفته، به سمت منابع در دسترس و بومی هدایت می کند. تمایز اصلی این پژوهش در دو نکته نهفته است: نخست، بهره برداری از باکتری بومی بدون نیاز به خرید یا واردات گونه های خاص؛ و دوم، استفاده از پساب صنعتی که پیش تر به عنوان زباله بی ارزش تلقی می شد، به جای محیط های کشت پرهزینه. این ویژگی ها نه تنها هزینه اجرای فرآیند را تا حد چشمگیری کاهش داده اند، بلکه مسیر توسعه پایدار و بومی تولید سوخت زیستی را هموار کرده اند. در نهایت، نتایج نشان داد که امکان تولید اتانول زیستی از منابع ارزان، در دسترس و بدون آلاینده گی خاص وجود دارد. بهره گیری از این روش می تواند جایگزینی عملی برای نفت - این منبع ارزشمند و فناپذیر باشد. کاهش آلودگی های زیست محیطی، صرفه جویی در مصرف سوخت های فسیلی، و ارتقای امنیت انرژی، از جمله پیامدهای مثبت و آینده ساز چنین رویکردی است. این پژوهش، اثباتی روشن است بر آن که راه حل های بزرگ، گاه در دل عناصر کوچک و نادیده گرفته شده طبیعت نهفته اند. در این مرحله، فرآیند تخمیر زیستی با هدایت آنزیم های ترشح شده از باکتری های اکتینومایست در محیط غنی از مواد آلی آغاز شد. آب پنیر علاوه بر قند لاکتوز، حاوی ترکیبات پروتئینی و پپتیدی نیز می باشد. این ترکیبات توسط

آنزیم‌های میکروبی شکسته شده و به ترکیبات ساده‌تری نظیر آمینواسیدها و سپس قندهایی چون گلوکز تبدیل می‌شوند. گلوکز حاصل طی مسیر تخمیر توسط آنزیم‌های تخمیری موجود در باکتری به اتانول و دی‌اکسید کربن تجزیه می‌گردد. فرآیند کلی این واکنش به شرح زیر است:

۱. هیدرولیز پروتئین‌ها → شکستن پیوندهای پپتیدی و تبدیل آن‌ها به واحدهای ساده‌تر

۲. تبدیل به قندهای قابل تخمیر (مانند گلوکز)

۳. تخمیر گلوکز →



4. نتیجه‌گیری

دستاوردهای این تحقیق به روشنی نشان داد که بهره‌گیری از منابع طبیعی و بومی به‌ویژه باکتری‌های خاکی که به سهولت قابل جداسازی هستند می‌تواند نقش بسیار مهمی در توسعه انرژی‌های جایگزین ایفا کند. نکته کلیدی در این پژوهش ترکیب دو عنصر کاملاً در دسترس بود: از یک سو اکتینومایست که در خاک‌های ایران به‌وفور یافت می‌شود و از سوی دیگر پساب لبنی که به‌عنوان یک پسماند صنعتی غالباً بدون استفاده باقی می‌ماند و متأسفانه نقشی پررنگ در آلودگی زیست‌محیطی دارد. این ترکیب توانست فرآیند تخمیر الکلی و تولید بیواتانول را به شیوه‌ای ساده، ارزان و کارآمد رقم بزند. ارزش افزوده این پژوهش نه تنها در تولید اتانول زیستی بلکه در کاهش چشمگیر آلودگی‌های ناشی از پسماندهای صنعتی نیز قابل توجه است. دستاوردهای این تحقیق می‌تواند الگویی برای پروژه‌های مشابه در مناطق دیگر باشد و نشان‌دهنده این است که با تکیه بر ظرفیت‌های بومی و روش‌های علمی استاندارد می‌توان به راهکارهایی پایدار و مؤثر برای بحران انرژی دست یافت. به طور کلی این پژوهش اثبات کرد که طبیعت منبعی بی‌پایان از فرصت‌ها و راه‌حل‌هاست و بهره‌برداری هوشمندانه از آن می‌تواند گره‌گشای بسیاری از چالش‌های زیست‌محیطی و انرژی باشد.

5. قدردانی

با نهایت احترام و قدردانی، از تمامی آموزگاران فرهیخته، مسئولان پرتلاش پژوهش و کادر محترم مدرسه که با مهر و دلسوزی، بی‌دریغ از ما حمایت کردند، سپاسگزاری می‌کنیم. همچنین از سرکار خانم خادمی تشکر ویژه داریم که ما را با دانش خویش یاری نمودند.

با قلبی سرشار از عشق و سپاس، از والدین عزیزمان که با صبوری در کنارمان ایستادند و ما را در این مسیر پرچالش همراهی کردند، قدردانی می‌کنیم. بی‌تردید، هر گامی که در این راه برداشته‌ایم، حاصل تلاش و محبت بی‌منت شماست. زحمات بی‌شمار شما و دلگرمی‌هایی که در لحظات سخت به ما بخشیدید، نیرویی ارزشمند در مسیر پیشرفت و دستیابی به اهدافمان بوده است.

6. مراجع

۱. ابراهیمی، محمدحسن و همکاران. (۱۳۹۲). تولید بیواتانول از مواد لیگنوسلولزی در بیوراکتور غشایی. چهارمین همایش ملی بیوانرژی ایران.
۲. احمدی، سیدعباس. رحیمی هرآبادی، سعید. نجفی، محمد سعید. (۱۳۹۳). گرمایش جهانی و جایگاه آن در تحولات ژئوپلیتیک نظام جهانی. پژوهش‌های جغرافیای انسانی، دوره ۴۶، شماره ۲. ص ۳۶۱-۳۷۸.
۳. بابایی، بابک. نوروزی، پیمان. (۱۳۹۴). امکان تولید بیواتانول از چغندر قند کشت پاییزه.
۴. حافظی، حسین. ممی پور، سیاب. (۱۴۰۳). بررسی اثرات پویای مصرف سوخت‌های فسیلی روی انتشار دی‌اکسید کربن در ایران. مطالعات علوم محیط زیست، دوره نهم، شماره ۱. ص ۸۰۴۵-۸۰۳۱.
۵. حسینی، سیده فاطمه و همکاران. (۱۳۹۷). تولید بیواتانول با استفاده از جلبک‌ها. دومین کنگره بین‌المللی و بیست و پنجمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران.
۶. سرمستی امامی، محمدرضا. (۱۳۸۹). بیوگاز و محیط زیست. نخستین همایش بیوانرژی ایران.
۷. عمرانی، قاسم علی. (۲۰۱۹). دانشنامه محیط زیست. پژوهشکده دانشنامه نگاری
۸. محسنی، مجتبی. ابراهیمی، هدی. (۱۳۹۲). جداسازی شناسایی و بهینه‌سازی باکتری‌های تولید کننده اتانول از فرایند تخمیر با پایه ساکرومیسس در صنایع الکل سازی ایران. نشریه زیست شناسی میکروبی، ص ۱۵-۲۸.