تصفیه پسابهای روغنی با استفاده از باکتریهای تولید کننده آنزیم لیپاز

ابوالفضل اژدرپور اسفندآبادی[۱]، سیدباقر مرتضوی*[۲] و غلامرضا موسوی [۲]

[۱] شیراز، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده بهداشت، گروه مهندسی بهداشت محیط

[۲] تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی، گروه مهندسی بهداشت محیط و حرفه ای

تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۴/۱۲

چکیده

پسابهای روغنی از جمله پسابهایی است که باعث آلودگی محیط زیست و آسیب شدید به حیات آبزیان می شود. روشهای مختلفی برای تصفیه این پسابها به کار گرفته شده است که یکی از مهم ترین آنها روشهای بیولوژیکی است. تصفیه آنزیمی فاضلاب نیز نمونه ای از روشهای بیولوژیکی است که در تحقیقات اخیر، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. هدف از این تحقیق، جداسازی باکتریهای تولید کننده آنزیم لیپاز و سپس استفاده از آنها در تصفیه پسابهای روغنی بود. دو محل جداسازی شامل خاک پالایشگاه آبادان و تصفیه خانه فاضلاب شهرک صنعتی بهشهر بود. در بین باکتریهای جدا شده، دو باکتری که متعلق به سویه های *استافیلوکوک* و *فلاووباکتر* بود، برای انجام مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گرفت. میزان فعالیت لیپازی آنها بین ۰/۶ تا ۳/۲۵ واحد بر میلی لیتر متغیر بود. همچنین مقدار حذف روغن که با روش گراوی متری اندازه گیری شد، برای غلظتهای کمتر از ۴ گرم در لیتر حدود ۹۵ درصد و برای غلظتهای بیشتر از ۴ گرم از ۲۰ تا ۵۰ درصد متغیر بود.

واژه های کلیدی: تصفیه فاضلاب، روغن؛ لیپاز؛ باکتری

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۸۲۸۸۳۸۴۵ ، پست الکترونیکی: mortazav@modares.ac.ir

مقدمه

فاضلابهای روغنی از جمله فاضلابهایی می باشند که دارای مواد آلی زیادی بوده و COD (اکسیژن مورد نیاز شیمیایی) این فاضلابها بین ۳۰ تا ۱۰۰ گرم در لیتر گزارش شده است(۷). تخلیه این فاضلابها به محیط زیست و آبهای سطحی باعث کاهش شدید اکسیژن و آسیب به حیات آبزیان خواهد شد. مقدار چربی و روغن نیز در این پسابها حدود ۱/۵تا ۱۵ گرم در لیتر می باشد که می تواند در سیستمهای تصفیه فاضلاب باعث مشکلات جدی از جمله خروج یکباره لجن از سیستم تصفیه، کاهش اکسیژن رسانی به میکروارگانیسم ها ، تجمع و ایجاد بوی شدید شود(۷ و ۸). در حال حاضر تصفیه آنزیمی این گونه از فاضلابها موضوع تحقیقات مختلفی است که توسط محققین مختلف انجام شده است. برای انجام این کار نیاز به آنزیم لیپاز می باشد که باعث شکسته شدن ترکیب روغن به اسید چرب و گلیسرول می شود. این ترکیبات در مقایسه با ترکیب روغنی با زنجیره جانبی بلندتر، به صورت راحت تری مورد استفاده میکروارگانیسم ها قرار می گرد(۵). اسیس و همکارانش(۲۰۰۹) تصفیه فاضلابهای روغنی را با استفاده از قارچ ژئوتریکوم انجام دادند و میزان حذف COD و رنگ را به ترتیب ۶۰ و ۵۰ درصد بیان کردند (۵). لان و همکارانش(۲۰۰۹) تجزیه روغن را با استفاده از نوعی مخمر انجام دادند و مقدار حذف روغن را ۸۰ درصد بیان نموده اند (۱۱). میکروارگانیسم های مختلفی از جمله قارچها، مخمرها و باکتریها می توانند آنزیم لیپاز را تولید کنند. در بین باکتریها، *سودوموناس*، *آسینتوباکتر*، *باسیلوس*، *آکروباکتر* و ... باکتریهایی هستند که توانایی فعالیت لیپازی

زیادی دارند. مکانهای مختلفی مانند فاضلابها و خاکهای آلوده به ترکیبات نفتی و روغنی، کود کمپوست و چشمه های آب گرم نیز از جمله محلهایی است که می توان این میکروارگانیسم ها را برای تولید آنزیم جداسازی نمود (۱ و ۷). هدف از این تحقیق، تصفیه پسابهای روغنی با استفاده از باکتریهای تولیدکننده آنزیم لیپاز بود که از مناطق آلوده به ترکیبات روغنی و نفتی جداسازی شد. استفاده از باکتریهای تولیدکننده آنزیم لیپاز یکی از نوآوریهای این تحقیق بود که با جداسازی آنها از محیطهای آلوده به روغن، برای تصفیه فاضلابهای روغنی استفاده شد.

مواد و روشها

مواد و لوازم مورد استفاده: تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده در آزمایشات با درجه خلوص بالا و متعلق به شرکت مرک آلمان بود. دستگاه سانتریفیوژ مورد استفاده مدل UNIVERSAL شرکت پارس ایران ، اسپکتوفتومتر UNICO مدل UV-2100 و دستگاه pH متر مدل GENWAY 3505 بود.

جداسازی و محیط کشت مورد استفاده: نمونه های خاک مورد استفاده از پالایشگاه آبادان و همچنین فاضلاب مورد استفاده از کارخانه شرکت صنعتی بهشهر جمع آوری شد. در نمونه های خاک پالایشگاه و کود کمپوست، ۱ گرم از خاک در محیط کشت معدنی حل شده و مایع فوقانی آن به محیط کشت معدنی شماره یک(۴ گرم در لیتر سولفات آمونیوم، ۲/۵ گرم در لیتر پتاسیم دی هیدروژن فسفات، ۰/۳ گرم در لیتر سولفات منیزیوم، ۰/۵ گرم در لیتر کلرید سدیم و ۰/۰۱ گرم در لیتر کلرید کلسیم و ۰/۰۱ گرم در لیتر کلرید منگنز) انتقال داده شد. در مورد فاضلاب بهشهر نیز مقدار ۵ میلی لیتر از فاضلاب شهرک صنعتی بهشهر در شرایط استریل به محیط مایع حاوی محیط کشت معدنی شماره یک و ۲ درصد روغن زیتون اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد و دور ۱۰۰ rpm، بر روی شیکر قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت این محیط کشت با رقتهای مختلف ۳ تا ۸ برابر رقیق شد و به صورت خطی در محیط کشت توین کشت داده شد. محیط کشت توین ۸۰ شامل ۱ درصد توین، ۱/۵ درصد آگار، ۰/۵ درصد کلرید سدیم و ۰/۱ درصد کلرید کلسیم بود. تشکیل هاله سفید اطراف کلنی باکتریها بیانگر تولید آنزیم لیپاز بود(۳). همچنین برای تأیید این مرحله از روش کمی نیز برای تشخیص فعالیت لیپازی نیز استفاده شد. برای نگهداری باکتریها نیز، کلنیهای دارای هاله سفید، از محیط کشت جدا و به محیط کشت جدید انتقال داده شد و به صورت خالص در پلیتهای جدید و در دمای یخچال قرار داده شد.

اندازه گیری فعالیت لیپازی: برای تأیید مرحله تشخیص کیفی، فعالیت لیپازی از طریق تشخیص کمی امولسیون روغن نیز اندازه گیری شد. ابتدا ۷۵ میلی لیتر امولسیون متشکل از روغن زیتون ۲۵ میلی لیتر و پلی وینیل الکل ۲ درصد تهیه شد. به ۵ میلی لیتر از این امولسیون، ۴ میلی لیتر بافر تریس با pH = ۸ و ۱ میلی لیتر کلرید کلسیم ۰/۱ مولار اضافه شد. pH محیط کشت برای تولید آنزیم لیپاز که حاوی ۲ درصد روغن زیتون، ۱ درصد پپتون و ۰/۵ درصد عصاره مخمر بود روی ۷ تنظیم شد. بعد از تزریق ۱ درصد باکتری از محیط پیش کشت که مشابه محیط کشت مورد نظر بود به مدت ۴۰ ساعت با دور ۱۰۰ rpm بر روی شیکر قرار داده شد و سپس محیط کشت در دور ۶۰۰۰ rpm به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و یک میلی لیتر مایع فوقانی آن که حاوی آنزیم لیپاز بود، به ۵ میلی لیتر از امولسیون روغن اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد و دور ۱۰۰ rpm داخل انکوباتور گذاشته شد. بعد از این زمان ۱۵ میلی لیتر مخلوط الکل-استون به آن اضافه شد تا امولسیون مورد نظر شکسته شود. نمونه شاهد نیز شامل مخلوط واکنش و یک میلی لیتر محلول آنزیمی غیر فعال شده در حرارت ۱۰۰ درجه سانتیگراد بود. مقدار اسیدهای چرب تولیدی در کنار معرف فنل فتالین و هیدروکسید سدیم ۰/۰۵ مولار تیتر

شد. یک واحد اسید چرب آزاد شده در دقیقه به ازای هر میلی لیتر محلول آنزیمی به عنوان یک واحد فعالیت لیپازی U/ml تعریف شد(۱۰).

اندازه گیری روغن: اندازه گیری روغن بر اساس روش وزن سنجی(روش استاندارد) انجام شد. روغن موجود در هر کدام از ظروف که حجم فاضلاب مصنوعی داخل آنها ۵۰ میلی لیتر بود به صورت جداگانه با استفاده از هگزان استخراج و پس از عبور دادن از کاغذ صافی وارد یک ظرف تمیز شیشه ای شد که برای استخراج کامل روغن، این کار سه مرتبه برای هر نمونه انجام شد. بعد از اتمام، کلیه ظروف مرتبط با روغن از جمله کاغذ صافی و قیف با هگزان شستشو و به نمونه هگزان استخراج شده اولیه اضافه شد. نمونه ها در حرارت ۶۵ درجه تبخیر و روغن باقیمانده اندازه گیری گردید. تفاوت وزن اولیه ظرف تمیز و ظرف ثانویه حاوی روغن استخراج شده تقسیم بر حجم نمونه فاضلاب مورد استفاده، بیانگر مقدار روغن بر حسب گرم بر لیتر می باشد(۶).

فاضلاب مصنوعی: فاضلاب مورد نظر متشکل از آب مقطر، سولفات آمونیوم gr/l ۴ و فسفات دی هیدروژن پتاسیم gr/l ۲ ، سولفات منیزیوم gr/l ۰/۳ و کلرید سدیم gr/l ۰/۵ بود. روغن مصرفی از نوع روغن زیتون مارک ورینا بود که غلظت آن از ۱/۶ تا ۱۷ گرم در لیتر متغیر بود.

جدول ۱- باکتریهای تولید کننده لیپاز جدا شده از تصفیه خانه فاضلاب بهشهر و خاک پالایشگاه آبادان

	فعالیت لیپازی(U/ml)			
محل جداسازی	۲۱ ساعت	۴۴ ساعت	۶۸ ساعت	۹۲ ساعت
بهشهر	۰/۸	۰/۶	۰/۶	۱/۶
بهشهر	۱/۷	۲/۸	۳	۲/۴
بهشهر	۲/۵	۲/۸	۲/۷۵	۳
بهشهر	۱,۵	۰,۸	۱/۲	۱/۲
بهشهر	۰/۸	۱	۰/۸۵	۱/۳
بهشهر*	۲	۲/۶	۳/۲۵	-
پالایشگاه آبادان	۱	۱	۱/۸	-
پالایشگاه آبادان	۱/۸	۱	۱/۲۵	-
پالایشگاه آبادان*	۱/۳۷	۲/۳	۲/۲۷	-

* سویه های دارای بیشترین فعالیت لیپازی

نتایج و بحث

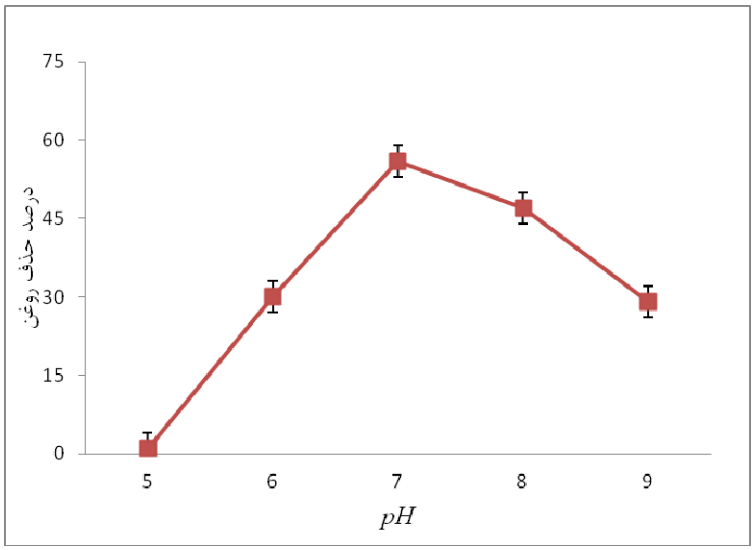
باکتریهای تولید کننده آنزیم لیپاز که دارای قطر هاله بیشتری در محیط کشت توین ۸۰ داشتند جدا شده و به پلیتهای جداگانه به صورت خالص انتقال داده شد. فعالیت لیپازی این باکتریها که ۶ کلنی از فاضلاب بهشهر و ۴ کلنی از خاک پالایشگاه آبادان بود در جدول ۱ نشان داده شده است. دلایل انتخاب این محلها برای جداسازی باکتری، مربوط به این موضوع است که فاضلاب روغنی بهشهر که مجموعه ای از کارخانجات تولید کننده روغن بوده و همچنین پالایشگاه که با روغنهای صنعتی در تماس است دارای باکتریهایی می باشد که با این ترکیبات روغنی تطابق یافته است. هاله تولیدی اطراف کلنیها ناشی از تولید اسید چرب و ترکیب شدن آن با نمکهای کلسیم می باشد که در نتیجه آن ترکیبات صابونی تولید شده و هاله سفیدی اطراف کلنی تشکیل می شود(۳). بعد از خالص سازی باکتریها، به منظور تأیید فعالیت لیپازی این سویه ها، فعالیت لیپازی آنها به صورت کمی هر ۲۴ ساعت به مدت ۴ روز اندازه گیری شد که مقدار آن بین ۰/۶ تا ۳/۲۵ U/ml متغیر بود. سه پارامتر قطر هاله تولیدی اطراف کلنی، مقدار فعالیت لیپازی و زمان ماند کمتر به منظور انتخاب باکتریها برای مرحله بعد مورد استفاده قرار گرفت. از بین باکتریهای جدا شده یک سویه از فاضلاب بهشهر(*فلاووباکتر*) و یک سویه از خاک پالایشگاه(*استافیلوکوک*) که قطر هاله بزرگ تر و فعالیت لیپازی بیشتر در زمان ماند کمتر داشتند، برای مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفت. جنس این باکتریها توسط آزمایشات بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۲ نشان داده شده است. محیط کشت در این مرحله برای تولید آنزیم تنها شامل پپتون، عصاره مخمر و روغن زیتون بود. سویه جدا شده از فاضلاب بهشهر یک نوع *فلاووباکتر* و سویه جدا شده از خاک پالایشگاه آبادان، متعلق به نوعی استافیلوکوک بود. پرامود و همکارانش(۲۰۰۶) میزان فعالیت لیپازی یک سویه

استافیلوکوک را ۳ واحد بر میلی لیتر گزارش نموده که از نوعی ماهی دریایی جدا نموده است و پس از بهینه سازی محیط کشت، این مقدار را به ۸ واحد بر میلی لیتر افزایش داده است(۱۳ و ۱۴). امتیازی و همکارانش(۲۰۱۰) نیز با استفاده از نوعی مخمر، مقدار فعالیت لیپازی را ۸-۱۱ واحد بر میلی لیتر ذکر کرده است که با استفاده از ترکیبات مختلف به عنوان منبع کربن به دست آمده است(۹). البته بعضی از محققین با استفاده از روشهایی مانند کلون کردن ژن، فعالیت لیپازی میکروارگانیسم را افزایش داده اند که به عنوان مثال وفا و همکارانش با استفاده از کلون کردن ژن *باسیلوس* توانسته است فعالیت لیپازی ۸-۱۲ واحد بر میلی لیتر را به دست آورد (۲).

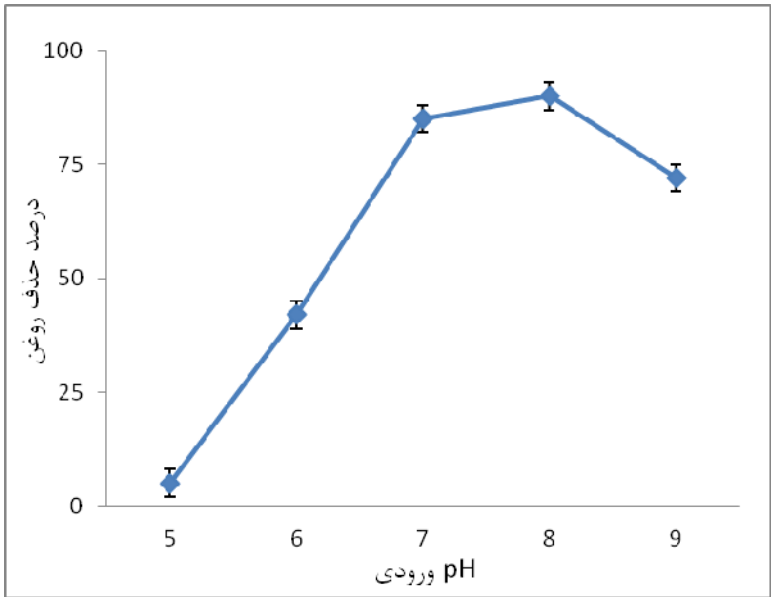
جدول ۲- نتایج تستهای بیوشیمیایی باکتریهای جدا شده

آزمایش	سویه جدا شده از بهشهر (*فلاووباکتر*)	سویه جدا شده از پالایشگاه (*استافیلوکوک*)
گرم	منفی	مثبت
شکل	باسیل	کوکسی
اکسیداز	مثبت	منفی
کاتالاز	مثبت	مثبت
حرکت	منفی	منفی
اکسیداسیون/فرمانتاسیون(O/F)	O	F
رنگدانه	زرد	زرد مایل به نارنجی

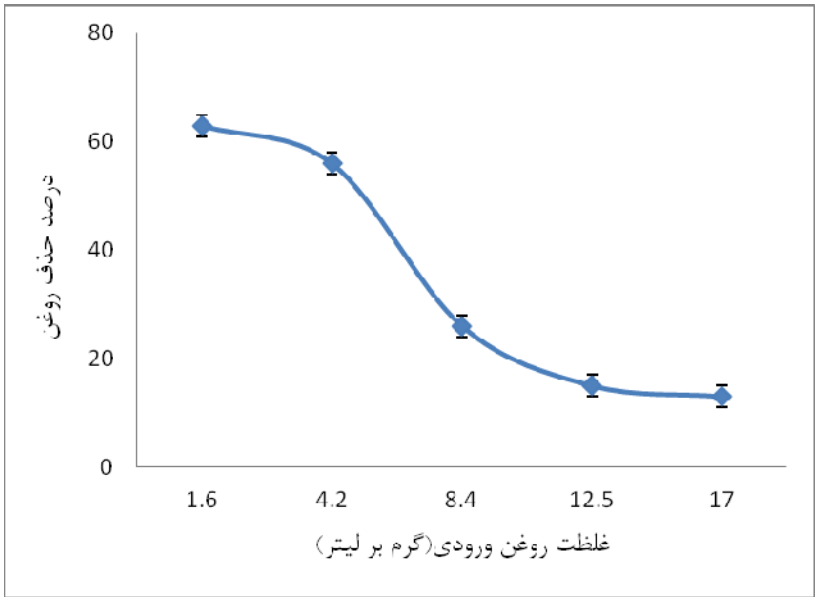
مقادیر pH بهینه هر کدام از باکترها در غلظت روغن ۴/۲ گرم در لیتر روغن زیتون و در زمان ماند ۴۸ ساعت اندازه گیری شد. pH اولیه مورد آزمایش بین ۵ تا ۹ متغیر بود. pH بهینه سویه *فلاووباکتر* حدود ۷ و *استافیلوکوک* حدود ۸ بود و در این محدوده بیشترین راندمان حذف را داشتند. همان طور که در نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده است؛ pH بهینه این سویه ها، خنثی و متمایل به قلیایی می باشد. در واقع در pH قلیایی، زمان بیشتری مورد نیاز است تا pH فاضلاب به pH اسیدی و کمتر از ۶ کاهش یابد. نتایج تحقیقات مختلف نیز نشان می دهد که باکتریها در pH اسیدی قادر به حذف ترکیبات روغنی نمی باشند و برای حفظ ماندگاری روغن در فاضلاب و جداسازی آن به روش فیزیکی، از روش اسیدی کردن فاضلاب استفاده می کنند. به همین منظور برای حذف بیولوژیکی روغن در مقادیر زیاد روغن، به ایجاد محیط قلیایی نیاز است تا از کاهش سریع pH در اثر تولید اسید چرب جلوگیری شود (۵). نتایج سورج و همکارانش(۲۰۱۱) نشان می دهد که با تجزیه روغن، میزان pH کاهش می یابد و فعالیت لیپازی باکتریها در pH کمتر از ۴ و بیشتر از ۱۰ متوقف می شود و راندمان حذف روغن توسط میکروارگانیسم ها کاهش می یابد (۱۵).



نمودار ۱- درصد حذف روغن توسط *فلاووباکتر* در مقادیر pH بین ۵-۹ و غلظت روغن ۴/۲ میلی گرم در لیتر و زمان ماند ۴۸ ساعت

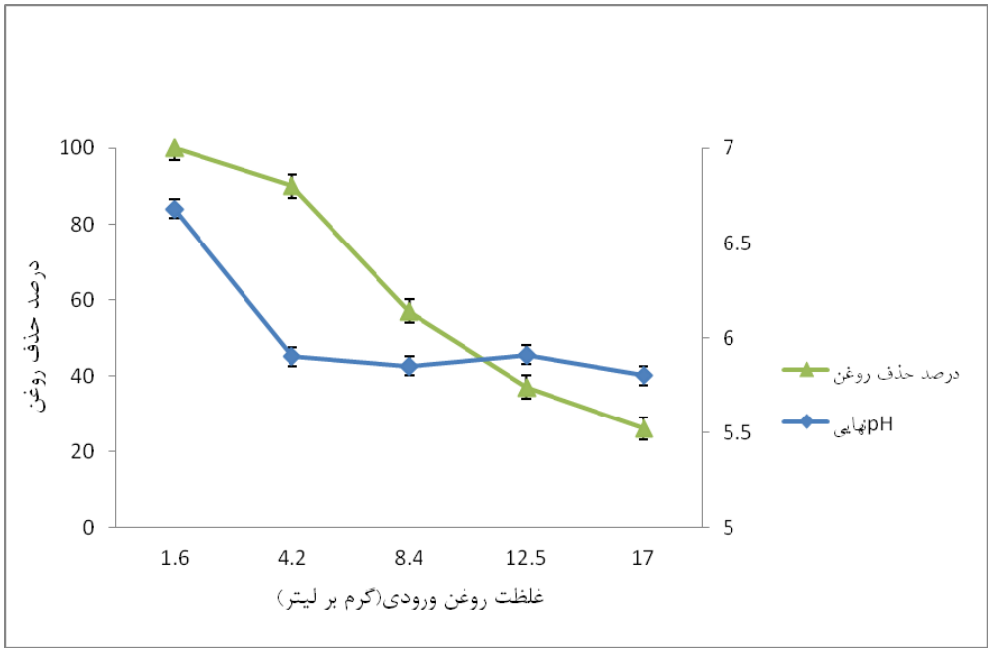


نمودار ۲- درصد حذف روغن توسط *استافیلوکوک* در مقادیر pH اولیه بین ۵-۹ و غلظت روغن ۴/۲ گرم در لیتر و زمان ماند ۴۸ ساعت

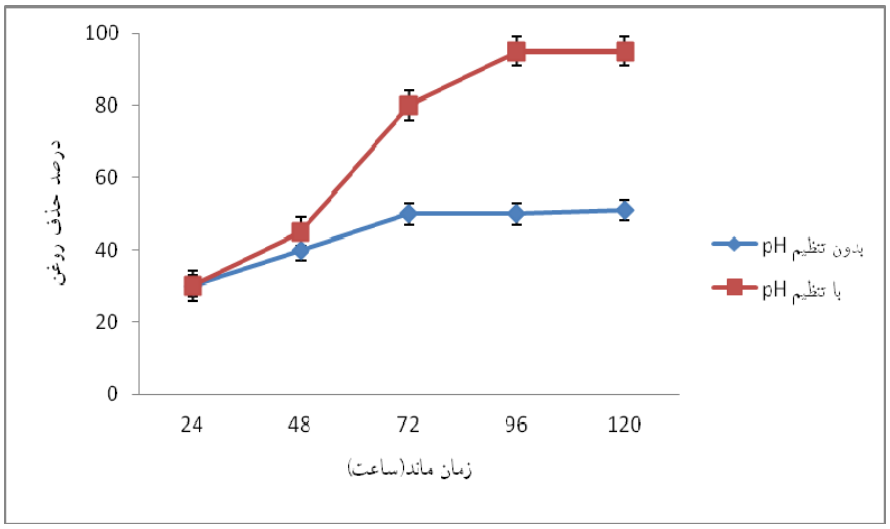


نمودار ۳- درصد حذف روغن توسط *فلاووباکتر* در غلظتهای مختلف روغن، pH اولیه ۷/۵ و زمان ۴۴ ساعت

نتایج راندمان حذف روغن در غلظتهای مختلف بین ۱/۶ تا ۱۷ گرم در لیتر در نمودارهای ۳ و ۴ نشان داده شده است. این مقدار برای سویه *فلاووباکتر* ۳±۶۵ درصد در غلظت ۱/۶ گرم در لیتر است و این مقدار در غلظت ۱۷ گرم در لیتر به ۱۵ درصد کاهش می یابد. مقدار حذف روغن توسط سویه *استافیلوکوک* نیز بین ۲۰ درصد برای غلظت ۱۷ گرم در لیتر تا ۹۷ درصد در غلظت ۱/۶ گرم در لیتر متفاوت بود که در مقایسه با سویه *فلاووباکتر* بیشتر می باشد. با توجه به نتایج نمودارهای ۳ و ۴ هر چه مقدار غلظت روغن بیشتر شود، مقدار حذف روغن کاهش می یابد. یکی از دلایل این موضوع می تواند کاهش pH باشد که در اثر افزایش تولید اسیدهای چرب می باشد. روغن متشکل از اسید چرب و گلیسرول می باشد که با تجزیه روغن به ترکیبات تشکیل دهنده، pH فاضلاب کم می شود (۴).



نمودار ۴- راندمان حذف روغن توسط *استافیلوکوک* در غلظتهای مختلف روغن و زمان ۴۴ ساعت



نمودار ۵- راندمان حذف روغن با غلظت ثابت روغن(۸/۴ گرم در لیتر) با استفاده از *استافیلوکوک* در pH تنظیم شده و متغیر

بیشترین راندمان حذف توسط سویه های باکتری در زمان ماند ۴۸-۷۲ ساعت انجام شد و بعد از آن به دلیل کاهش pH و قرار گرفتن باکتریها در فاز رشد ثابت و سپس فاز رشد مرگ و میر، مقدار حذف روغن ثابت باقی می ماند و افزایشی در راندمان حذف مشاهده نمی شود. نمودار ۵ که برای باکتری *استافیلوکوک* در غلظت ۸/۴ گرم در لیتر روغن نشان داده شده است، این موضوع را تأیید می کند که در ۴۸-۷۲ساعت اولیه، حدود ۵۸ درصد روغن حذف می شود. اگر بتوان مقدار pH فاضلاب را در مقدار ۷ ثابت نگه داشت و مواد مغذی مورد نیاز مانند نیتروژن را در سیستم به مقدار مناسب تهیه کرد، می توان حذف کامل روغن را به دنبال داشت. نمودار ۵ حالتی را نشان می دهد که غلظت روغن ثابت بوده و مقدار آن ۸/۴ گرم در لیتر می باشد. در این حالت راندمان حذف بعد از ۴۸ ساعت حدود

۵۰ درصد ثابت باقی می ماند و با زمان نیز تغییر نمی کند. اما در حالتی که pH در عدد ۷ با استفاده از هیدروکسید سدیم ۰/۰۵ نرمال تنظیم و مواد مغذی مورد نیاز تهیه شود می توان راندمان حذف را به ۹۵ درصد افزایش داد. مقدار راندمان حذف روغن در زمان ماند ۲۴ ساعت، ۳۰ درصد و در زمان ماند های ۴۴، ۶۸ و ۹۲ ساعت به ترتیب به ۴۵، ۸۰ و ۹۵ درصد رسید. نتایج اورافین و همکارانش(۲۰۰۲) نیز مقدار حذف روغن توسط سویه های تولید کننده آنزیم لیپاز(*باسیلوس* و *سودوموناس*) را ۸۰ درصد در غلظت ۱۲ گرم بر لیتر و حذف COD را ۹۰ درصد بعد از ۷ روز گزارش نموده است که در راستای نتایج به دست آمده در این تحقیق است(۱۲). البته نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان می دهد که راندمان حذف در مطالعه اخیر بیشتر از مطالعه اورافین و همکارانش بوده و زمان ماند کمتری(۹۲ ساعت) نیز برای دستیابی به این راندمان مورد نیاز بوده است(۱۲). همچنین لان و همکارانش(۲۰۰۹) در مطالعه ای مقدار حذف روغن را با استفاده از نوعی مخمر انجام داده است که راندمان حذف آن برای غلظتهای بیش از ۳ گرم بر لیتر بسیار کم بوده است(۱۱)، اما در این مطالعه، با بهینه سازی شرایط مقدار حذف روغن در غلظت ۸ گرم بر لیتر به ۹۵ درصد افزایش پیدا کرد که در مقایسه با مطالعات دیگران، راندمان حذف مناسبی به شمار می آید.

نتیجه گیری نهایی

در این تحقیق به حذف مقادیر زیاد روغن در فاضلابهای روغنی پرداخته شد که این کار با استفاده از باکتریهایی انجام شد که فعالیت لیپازی داشتند. برای انجام این کار، باکتریها از محلهایی(فاضلاب روغنی بهشهر و خاک پالایشگاه) جدا شدند که از قبل با آلاینده روغنی در تماس بودند. در سایر تحقیقات، حذف مقادیر زیاد روغن با استفاده از چربی گیر و شناورسازی انجام شده است که تنها آلاینده از یک فاز به فاز دیگر انتقال داده می شود و تنها عمل جداسازی انجام می شود، اما در این تحقیق با استفاده از باکتریهای تولیدکننده آنزیم لیپاز، تجزیه و حذف با استفاده از باکتریهای لیپازی انجام شد که در نهایت جرم سلولی به دست می آید. در پایان به عنوان نتیجه گیری نهایی می توان به این موضوع اشاره کرد که باکتریهای تولید کننده آنزیم لیپاز در غلظتهای روغن کمتر از ۴ گرم در لیتر می توانند به خوبی چربی و روغن را از فاضلابهای روغنی حذف نموده و در غلظتهای بیشتر، در صورت مساعد بودن شرایط از جمله مواد مغذی و pH می توانند عمل تصفیه را انجام دهند، ضمن اینکه می توان از پسابهایی مانند پساب کارخانجات روغن زیتون به عنوان بستری برای تولید آنزیم لیپاز استفاده کرد. این پسابها به دلیل داشتن ترکیبات روغنی که محرک مناسبی برای تولید لیپاز می باشد می توانند به عنوان محیط کشت برای تولید لیپاز و به تبع آن تصفیه فاضلاب استفاده شود که البته نیازمند مطالعات جامع تری در این زمینه می باشد.

منابع

۱- صالح قمری الف، آموزگار م، خواجه خ، ۱۳۸۷، تولید و بهینه سازی آنزیم لیپاز خارج سلولی در یک باکتری نمک دوست نسبی بومی ایران، *مجله زیست شناسی ایران*، ۲۱(۵) :۹۰۹-۹۱۷

۲- وفا م، یخچالی ب، حق نظری ع، ۱۳۹۰، کلونینگ و بیان ترشحی ژن لیپاز باسیلوس ترموکاتنولاتوس در پیکیا پاستوریس با استفاده از توالیهای نشانه طبیعی و آلفا فاکتور مخمری، ۲۴(۵) : ۶۴۰-۶۴۷.

3- Aliyu S. 2011, Suitability of using palm oil mill effluent as a medium for lipase production, *African Journal of Biotechnology*. 10(11): 2044-2052.

4- Aliyu S. 2011, Effect of process parameters on lipase production by Candida cylindracea in stirred tank bioreactor using renewable palm oil mill effluent based medium. *J Molecular Catalysis: Enzymatic* 72: 187– 192.

5- Amro A and Soheir R. 2009, Degradation of Castor Oil and Lipase Production by

Pseudomonas aeruginosa. American-Eurasian *J. Agric. & Environ*. Sci., 5 (4): 556-563.

6- APHA-AWWA-WPFC. 1995, Standard Methods for the Examination of Water and wastewater, 16th ed. Washington DC, USA.

7- Asses N. 2009. Use of *Geotrichum candidum* for olive mill wastewater treatment in submerged and static culture. *Bioresource Technology*, 100 : 2182–2188.

8- Cammarota M.C,. Freire M.G. 2006, A review on hydrolytic enzymes in the treatment of wastewater with high oil and grease content. *Bioresource Technology*, 97: 2195–2210.

9- Emtiazi G , 2010, Isolation of lipase and citric acid producing yeasts from agro-industrial wastewater. *New Biotechnology*, 27(4):337-340.

10- Gecernir C. 2006, Isolation and screening of alkaline lipase-producing fungi from Brazilian savanna soil, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 22: 881–885.

11- Lan W, Gang G, WAN J. 2009, Biodegradation of oil wastewater by free and immobilized *Yarrowia lipolytica. Journal of Environmental Sciences*: 21237–242.

12- Orapin B, Achara K and Suptawee F. 2002, Biotreatment of High Fat and Oil wastewater by Lipase Producing Microorganisms. *J. Nat. Sci*., 36: 261 – 267.

13- Pramod W and Ashok K. 2006, Studies on the enhanced production of extracellular lipase by *Staphylococcus epidermidis*. *J. Gen. Appl. Microbiol*., 52: 315–320.

14- Rohit S, Yusuf C, Uttam C. 2001, Production, purification, characterization and applications of lipases. *Biotechnology Advances* 19: 627–662.

15- Soorej M, 2011, Lipase from marine *Aspergillus awamori*: Production, partial purification and application in oil effluent treatment. *New Biotechnology*, 28(6):627-639.

Treatment of oily wastewaters by Lipase enzyme producing bacteria

Azhdarpoor. A.[1], Mortazavi B.[2], Moussavi Gh.R.[2]

[1] Environmental Health Engineering Dept., School of Public Health, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, I.R. of Iran

[2] Environmental and Occupational Health Dept., Faculty of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

Oily Wastewater causes severe environmental pollution and damage to aquatic life. Different methods for treating the wastewater are applied to one of the most important biological methods. Enzymatic treatment of wastewater is also an example of the ways in which biological research has attracted much attention. The purpose of this study, isolation of bacteria producing lipase enzyme and then use them in the oily wastewater treatment. Two separate locations, including Abadan refinery soil and the Behshar Industrial town sewage treatment plant. Among the isolated bacteria, two strains of bacteria belonging to *Staphylococcus* and *Flavobacter* was used for subsequent studies. They ranged between 0.6 to 3.25 u/ml of lipase activity. The removal of the oil was measured using gravimetric, for concentrations less than 4 grams per liter to about 95% and for concentrations greater than 4 gr/l ranged from 20 to 50 percent.

Key words: wastewater treatment, oil, lipase, bacteria