Archive of SID

فصلنامه علمی ـ پژوهشی دورهٔ ٤، شمارهٔ ٢، تابستان ١٣٩٤، صفحه ٥٥-٦٣

قابلیت بازیافت پروتئین از پساب کارخانجات پودر ماهی با استفاده از کیتوزان، نانوذرات کیتوزان و ترکیب کیتوزان–سولفات آلومینیوم

سارا رئیسی[1*]، علیرضا عالیشاهی[2] و بهاره شعبانپور[3]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲-استادیار، گروه شیلات، دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۳-استاد، گروه شیلات، دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۹۳/۰٤/۱٤ تاریخ پذیرش: ۹٤/۰۳/۰۵

*نویسنده مسئول مقاله: sara.reesy@yahoo.com

چکیده

هدف این پژوهش در مرحله اول بازیافت پروتئین موجود در پساب کارخانه‌های پودر ماهی با استفاده از کیتوزان، نانوذرات کیتوزان و ترکیب کیتوزان–سولفات آلومینیوم(آلوم) بود. در مرحله دوم، ویژگی-های پروتئین استخراج شده از لحاظ پروفایل اسیدهای آمینه ضروری بررسی شد. همچنین کاهش حجم پروتئین پساب با بررسی ویژگی‌هایی مثل کدورت، pH، COD و پروتئین محلول ارزیابی شد و ویژگی‌های نانوذرات کیتوزان با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی بررسی گردید. بررسی مورفولوژی نانوذرات کیتوزان به‌وسیله‌ی میکروسکوپنیروی اتمی نشان داد که این نانوذرات دارای شکل کروی با سطح ناهموار و قطرمتوسط ٤٠ نانومتر هستند. شاخص‌های کدورت، COD و پروتئین محلول بعد از افزودن غلظت‌های مختلف کیتوزان، نانوذره کیتوزان و ترکیب کیتوزان-آلوم نسبت به نمونه شاهد کاهش معنی‌داری را در سطح ۵ درصد نشان داد. بیشترین بازیافت پروتئین مربوط به ترکیب کیتوزان-آلوم و نانوذرات کیتوزان بود. ترکیب کیتوزان-آلوم و نانوذرات کیتوزان نسبت به یکدیگر تفاوت معنی داری نداشتند ($p\geq$ ۰/۰۵).بررسی پروتئین بازیافت شده از لحاظ پروفایل اسیدهای آمینه ضروری نشان داد که در پروتئین پساب پودر ماهی، اسیدهای آمینه نظیر هیستدین، لیزین، متیونین و فنیل آلانین وجود دارد.

کلید واژگان: نانوذرات کیتوزان، سولفات آلومینیوم، بازیافت پروتئین، پساب پودر ماهی و COD.

www.SID.ir

Archive of SID

۱-مقدمه

پودر ماهیبهترین و گران قیمت‌ترین بخش پروتئینیخوراکهمهحیوانات است.بسته به نوعمواد اولیهبه‌کار برده شده،به‌طور کلی دونوع فرایندتولیدپودر ماهیوجود دارد: نوع اول که در تولید آن از لاشه ماهیان استفاد می‌شودمانندسر،استخوانو یا دیگرمواد زائد، و نوع دوم که ازماهیکامل استفاده می‌شود. فاضلابتولید شده توسطاین کارخانه‌هاحاوی بار مواد آلیبالا (۳۰-۱۲۰g COD[1]/L)است که بخش مهمی ازآنها رامواد جامد معلق (۵-٤۰VSS[2]/L) تشکیل می‌دهند.ترکیباین پساب‌هابستگی بهماهیتمواد خامفراوری شدهدر کارخانه داردکهبه‌طور عمده ازپروتئینحدود۷۲٪، چربیومحتوایکربوهیدرات به‌ترتیبحدود ۲۱و۷٪تشکیل شده است (Roeckel and Marti, 1996; Sunny and Mathai, 2013).پساب تولید شده در کارخانه پودر ماهیمعمولاً به محیط اطراف کارخانه رهاسازی می‌شود. با این کار COD محیط افزایش می‌یابد و تأثیراتنامطلوبی را بر محیطزیست منطقه دارد. گاهی پساب را در حوضچه‌های تبخیر رها می‌کنند تا پساب تبخیر شود که این کار نیازمند یک فضای فیزیکی است و معمولاً کارخانجات با محدودیت این فضا مواجه‌اند. در صورت کم بودن فضا روند تولید با وقفه روبه‌رو می‌شود و سرعت تولید را کاهش می‌دهد. بازیافت پروتئین می‌تواند راه‌حل مناسبی برای رفع این مشکلات باشد. همچنین با بازیافت پروتئین و بازگشت آن به چرخه تولید می‌تواند سود اقتصادی خوبی را نیز برای آن مرکز تولیدی به ارمغان آورد.

تاریخچه استفاده از مواد منعقدکننده بسیار کهن بوده و به استفاده مصریان از سولفات آلومینیوم یا آلوم در ۲۰۰۰ سال پیش از میلاد برمی‌گردد. سال‌ها بعد در انگلستان در سال ۱۷٦۷، مردم عادی برای زلال‌سازی آب‌های گل آلود از این ماده استفاده کردند و در سال ۱۸۸٤ نیز اولین امتیاز انعقاد به‌وسیله پرکلراید آهن در شرکت آب نیواورلئان به ثبت رسید و یک سال بعد دانشگاه روتگرز[3] نتایج اولین تحقیقات خود را در مورد آلوم به‌عنوان یک منعقدکننده منتشر کرد. حاصل تحولات یاد شده این بود که عمل انعقاد به‌عنوان پیش فرایندی که فیلتراسیون را کامل خواهد کرد، شناخته شد.توانایی سولفات آلومینیوم در ته‌نشینی مواد کلوئیدی و حذف کدورت از آب و پساب سبب شده از آن به‌صورت تجاری در تصفیه آب‌ها استفاده شود. باوجود مزیت‌هایی که سولفات آلومینیوم در تصفیه آب دارد، پیامدهای زیست‌محیطی از قبیل، بروز بیماری آلزایمر و بیماری‌های سرطانی (Mclachlan, 1995)و تولید حجم زیادی از رسوب‌ها (Renaut, 2009)را در پی دارد. در حالی‌که، کیتوزان یک پلیمر زیستی با بار مثبت است که از اِن-داستیلاسیونکیتینحاصل می‌شود و بعد از سلولز فراوان‌ترین پلی ساکارید در طبیعت است (Jolles and Muzzarelli, 1999). استفاده ازکیتوزانبه‌عنوانیک عامل انعقادیبرای از بین بردنمواد جامد معلق ازجریان‌هایآب پنیرو آب شستشوی فراورده‌های لبنی (Bough and Landes, 1976; Savant and Torres, 2000; Selmer-Olsen et al., 1996; Dyrset et al., 1998)،فراوریماکیان (Bough et al., 1975)، غذاهای دریایی (Savant, 2001; Savant and Torres, 2003; No and Meyers, 1989b; Meyers and Chen, 1985; Shahidi et al., 1999; Shahidi and Synowiecki, 1991; Guerrero et al., 1998)و سبزیجات (Bough, 1975; Moor et al., 1987)مطالعه شده است.Johnson و

1Chemical Oxygen Demand
2Volatile Suspended Solids

www.SID.ir

Archive of SID

Gallanger(۱۹۸٤)،برتریکیتوزان را در مقایسه با منعقدکننده‌هایشیمیایی دیگر مانندسولفات فریکدر بهبود پساب حاصل ازمیگو، خرچنگو ماهی آزادگزارش کردند و به حذف۹۰٪مواد جامد محلول دست یافتند.از آنجا کهکیتوزانیزیست تخریب‌پذیر وغیرسمیاست، به‌عنوانیک گزینه مناسب برای بازیافت پروتئینپساب‌ها است.کیتوزان در حالت محلول به علت داشتن گروه آمین(NH_2) بر روی کربن شماره ۲، یک پلیمر با بار مثبت است که به‌آسانی با پلی‌آنیون‌ها مانند آلژینات، کاراگینان و پکتین در اثر برهم کنش الکترواستاتیک بین گروه‌های کربوکسیل($C00^-$) و تری‌اکسیدگوگرد(SO_3) واکنش می‌دهد و سبب تشکیل ساختمان‌های پلیمری بزرگ می‌شود (Mireles et al., 1992).ازآنجاییکهکیتوزاندرتصفیهپسابازقابلیتمناسبیبرخوردا راست، بنابراینباتوجهبهآنچهذکرشداینااحتمالوجوددارد کهنانوذراتکیتوزانازقابلیتبیشترینسبتبهکیتوزاندرتصفیهپسابیبرخوردارباشند.

هدف این تحقیق استفاده از پلیمر زیستی کیتوزان در غلظت‌های مختلف، نانوذرات کیتوزان و ترکیب کیتوزان-آلوم در بازیافت پروتئین از پساب کارخانه پودر ماهیبرای کاهش پیامدهای زیست محیطیاست، همچنین پلیمر زیستی کیتوزان به‌دلیل دسترسی آسان و عدم خطرهای زیست‌محیطی فرصت استفاده از پروتئین بازیافت شده را در جیره غذایی حیوانات فراهم می‌کند.

۲- مواد و روش

۲-۱-جمع‌آوریپساب پودر ماهی و تولید تیمارهای مختلف

پسابحاصل از تولید پودرماهیازکارخانهنگینپودرواقعدرشهرکصنعتیبهشهردرمهرما هسال ۹۲ جمع‌آوری وبهآزمایشگاهدانشگاهعلومکشاورزیومنابعطبیعیگرگانانتقالدا دهشد.در ابتدا پساب از لحاظ ویژگی‌هایی مثل کدورت، COD، pH و پروتئین محلول بررسی شد. سپس نمونه پساب تهیه شده از کارخانه پودر ماهی به شش قسمت تقسیم گردید: یک قسمت به‌عنوان شاهد، سه قسمت تحت تأثیر سه غلظت متفاوت کیتوزان(۰/۵ ، ۱ و ۲ گرم)، یک قسمت تحت تأثیر نانوذرات کیتوزانو یک قسمت تحت تأثیر ترکیب کیتوزان-آلوم(۰/۷۵ گرم کیتوزان+۰/۲۵ گرم آلوم) قرار گرفت(Guerrero et al., 1998).برای اعمال تیمارهای فوق، کیتوزان با درجه د-استیلاسیون ۹۰٪ و وزن مولکولی۲۰KDa از شرکت سیگما خریداری شد.پس از افزودن کیتوزان بهپساب، سوسپانسیون‌ها در یک دستگاه تکان‌دهنده برای مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا با هم ترکیب شوند و سپس در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۲٤ ساعت قرار داده شد(Savant and Torres, 2003).پس از رسوب مواد معلق مایع سطحی جدا گردید و سپس شاخص‌های مجدد آنالیز شدند، همچنین پروتئین بازیافت شده از پساب از لحاظ پروفایل اسیدهای آمینه ضروری بررسی شد.

۲-۲- روش تهیه نانوذرات کیتوزان

برای تولید محلول کیتوزان شفاف، ۰/۷۵ گرم کیتوزان در ۱٪ اسید استیک حل شد. همچنین تری پلی فسفات(۰/۲۵گرم برلیتر) درآب مقطرحل شد. کیتوزان محلول با تری پلی فسفات با همزن مغناطیسی مخلوط شد و نانوذرات کیتوزان از طریق مکانیسم ژل یونی تری پلی فسفات(**Tpp**)تولید شدند(**Alishahi et al.,2011**).سپسویژگی‌هاینانوذراتکیتوزانبااستفادهازمیکروسکوپنیرویاتمی (**AFM**) بررسیشد.

۳-آزمایش‌های شیمیایی

www.SID.ir

Archive of SID

٣-١-اندازه‌گیری pH

pH پساب حاصل از تولید پودر ماهی با استفاده از دستگاه pHمتر(model WTW 315i; WTW, Weinheim, Germany) در دمای اتاق اندازه‌گیری شد.

٣-٢-اندازه‌گیری کدورت

کدورت پساب پودر ماهی تولیدی با استفاده از دستگاه کدورت سنج(Wagtech, WE30140, England) که با ٤ محلول استاندارد٠/٠٢، ٢٠، ١٠٠و ٨٠٠ کالیبره شده است، اندازه‌گیری شد. بدین منظور١٠ میلی‌لیتر از نمونه برداشته و در کووت (cuvett) مخصوص دستگاه کدورت سنج قرار داده شد تا میزان کدورت موجود در نمونه قرائت شود. واحدهای کدورت استفاده شده برایک نفلومتر کالیبره شده را واحد کدورت نفلومتری (NTU[1]) می‌نامند.

٣-٣-اندازه‌گیری پروتئین

مقدارپروتئینه روش Bradford(١٩٧٦) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر(Biochrom, libra s 12, England) در طول موج ٥٩٥ نانومتر اندازه‌گیری گردید.

٣-٤- اندازه‌گیری COD

به میزان ٢ سی‌سی از پساب با پیپت برداشته و در ویال-COD ریخته و خوب هم زده شد. نمونه‌ها در رآکتورCODدر دمای ١٤٨ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢ ساعت در دستگاه باقیماند. سپس دستگاه خاموش و نمونه‌ها خارج شده تا ویال‌ها خنک شوند. پس از خنک شدن نمونه‌ها آنها را در دستگاه فوتومتر قرار داده تا میزان CODموجود در آن قرائت شود(Amuda and Ibrahim, 2006).

٣-٥- اندازه‌گیری آمینواسید

بدین منظورنمونه‌ها به مدت ٢٤ ساعت با محلول اسید هیدروکلریک (٦N) در دمای ١١٢ درجه سانتی‌گراد هیدرولیز گردید. نمونه‌ها پس از اشتقاق با معرف فنیل ایزوتیوسیانات به روش گاز کروماتوگرافی و با استفاده از دستگاه HPLC مدل Waters(Waters auto sample model 717 plus; Waters binary pump model 1525; Waters dual absorbance detector model 2487) بر اساس روش Pico-Tag (Cohen et al., 1989) استخراج شدند.نتایج با استفاده از نرم‌افزار Waters و مقایسه با نتایج حاصل از نمونه استاندارد اسید آمینه (Pierce NC10180) به‌دست آمد.

٤-آماده‌سازی نهایی

٤-١- میکروسکوپ نیروی اتمی(AFM)

AFM برایتجسم طبیعت ناهموار نانوذرات کیتوزان استفاده شد (Ghadi et al., 2014).مورفولوژی نانوذرات توسط AFMو با استفاده از دستگاه ARA-AFM ساخت ایرانانجام شد.برایآماده‌سازی نمونه‌ها برای تصویربرداری، ١٥ میکرولیتر از نانوذره کیتوزان بر رویگریدهای مخصوص AFMریخته شد و پس از خشک شدن، توسط میکروسکوپ بررسی گردید.

٤-٢-تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل‌های آماری از نرم‌افزار SPSS استفاده گردید. از آنالیز واریانس یکطرفه(ANOVA) برای تشخیص وجود اختلاف بین نمونه شاهد و نمونه‌های تحت تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوزان استفاده شد. مقایسه میانگین پروتئین، کدورت و COD به کمک آزمون چند دامنه دانکن صورت گرفت. وجود اختلاف معناداری در سطح احتمال ٥ درصد تعیین شد.

٥- نتایج و بحث

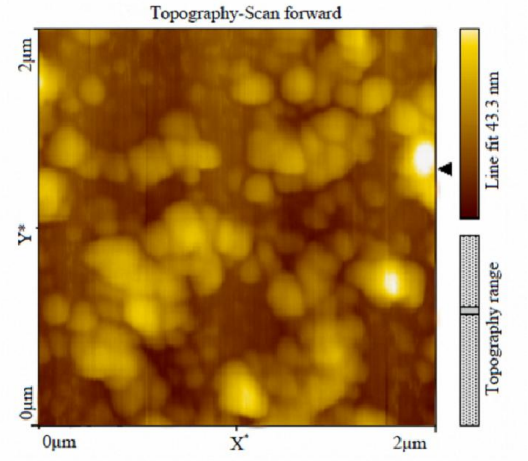
٥-١-بررسی مورفولوژی نانوذرات کیتوزان به‌وسیلهٔ میکروسکوپ نیروی اتمی(AFM)

1Nephelometric Turbidity Unit

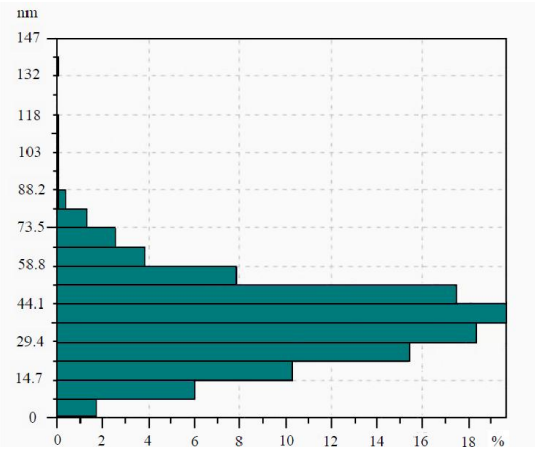
www.SID.ir

Archive of SID

بررسی مورفولوژی نانوذرات کیتوزان به‌وسیلهٔ میکروسکوپ نیرو اتمی نشان داد که این نانوذرات دارای شکل کرویباسطح ناهموار هستند و قطر متوسطذرات٤٠نانومتر بود(شکل ۱ و ۲).



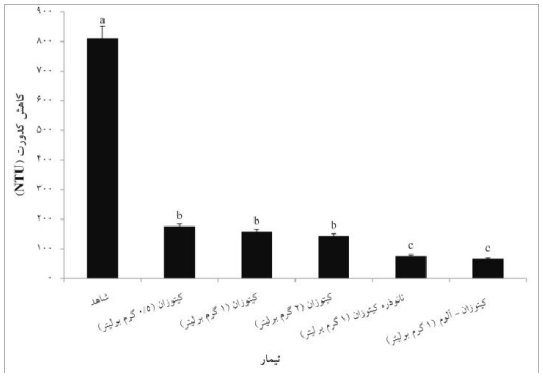
شکل ۱ تصویر AFM نانوذرات کیتوزان



شکل ۲ توزیع اندازهذارت نانوذرات کیتوزان

۵-۲-اثر کیتوزان، نانوذره کیتوزان و ترکیب کیتوزان-آلوم بر pH و کدورت پساب کارخانه پودر ماهی

نتایج نشان داد که میزان pH در پساب کارخانه مورد مطالعه بین ٦/٥ -٥/٩ بود. همچنین در بررسی میزان کدورت در پساب مورد مطالعه مشخص گردید که میزان کدورت اولیه(شاهد) آن۸۱۱NTU بود که این مقدار در تیمار کیتوزان ۰/۵ گرم بر لیتر برابر با ۱۷۵/۷٤ NTU بود و با افزایش غلظت کیتوزان مقدار آن کاهش یافت به‌طوری‌که در تیمار کیتوزان ۲ گرم بر لیتر مقدار آن به ۱٤۳/٥۳NTU رسید. بیشترین مقدار کاهش کدورت٦٦/۰۳NTU (۹۱/۸۵٪)در استفاده از ترکیب کیتوزان-آلوم مشاهدهگردید(شکل ۳). نتایج بیانگر وجود کاهش معنادار کدورت در نتیجه کاربرد کیتوزان-آلوم و نانوذرات کیتوزان در مقایسه با شاهد و غلظت‌های مختلف کیتوزان بود. این در حالی است که بین تیمارهای ترکیب کیتوزان-آلوم و نانوذرات کیتوزان از نظر کاهش مقدار کدورت تفاوت معناداری وجود نداشت (p≤۰/۰۵).Zemmouriو همکاران (۲۰۱۳) کدورت بالای آب سد را از طریق کیتوزان به‌عنوان منعقدکننده اولیه و کمک منعقدکننده با سولفات آلومینیوم بررسی کردند. این فرایند به‌وسیلهٔاندازه‌گیری کدورت آب رویی ارزیابی شد.نتایج آنها نشان داد که غلظت‌های پایین کیتوزان به میزان ۸۵٪ میزان کدورت را کاهش دادند در حالی‌که استفاده از ترکیب کیتوزان-آلوم به میزان ۹۷٪ کدورت را کاهش داد. نتایج فوق با نتایج حاصل از این تحقیق همخوانی دارد.



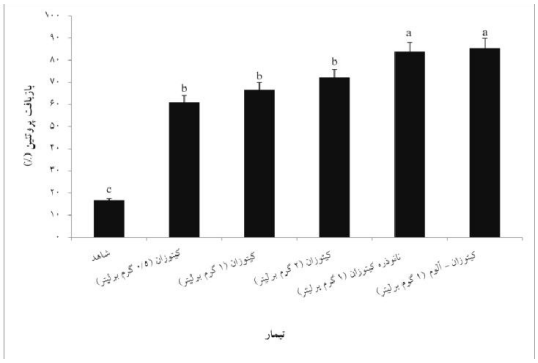
شکل ۳ اثر تیمارهای مورد مطالعه بر روی کدورت، حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد می باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

٥-٣- تأثیر کیتوزان، نانوذره کیتوزان و ترکیب کیتوزان-آلوم بر پروتئین محلول

نتایج مربوط به بازیافت پروتئین تحت تیمارهای مختلف در شکل ٤ ارائه شده است. همان‌طور که در این شکل مشاهده می‌شود بیشترین بازیافت پروتئین مربوط به تیمارکیتوزان-آلوم (٨٥/٥٦٪) است. بازیافت پروتئین توسط کیتوزان در غلظت ٠/٥ گرم بر لیتر ٦١/١١٪ بود که با افزایش غلظت کیتوزان این مقدار افزایش یافت به‌طوری‌که در غلظت ٢ گرم بر لیتر به مقدار ٧٢/٢٢٪ رسید. نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف کیتوزان به‌طورمعناداری باعث افزایش بازیافت پروتئین نسبت به تیمار شاهد می‌شدند، در صورتی کهبین غلظت‌هایمختلف کیتوزان در میزان پروتئین بازیافتی تفاوت معناداری وجود نداشت ($p\leq$٠/٠٥). همچنین نتایج نشان‌دهندهٔ وجود تفاوت معنادار بین تیمارهای کیتوزان-آلوم و نانوذرات کیتوزان با تیمارهای شاهد و غلظت‌های مختلف کیتوزان بود، در صورتی‌که از نظر میزان بازیافت پروتئین بین تیمارهای ترکیب کیتوزان-آلوم و نانوذرات کیتوزان تفاوت معناداری ملاحظه نشد ($p\leq$٠/٠٥). Boughو همکاران (١٩٧٥) از کیتوزان برای کاهش و بازیافت مواد جامد معلق در فاضلاب فراوری ماکیان استفاده کردند. بهبود ضایعات حاصل از فراوری ماکیان به‌وسیلهٔ کیتوزان به‌عنوانیک عنصر انعقادی، ذرات معلق جامد را در ترکیبات فاضلاب ٩٤-٧٤٪ کاهش داد. ضایعات فراوری ماکیان که تحت تأثیر کیتوزان قرار گرفتند حاوی ٥٤٪ پروتئین و در نمونهٔ کنترل بدون اعمال کیتوزان و فقط تحت تأثیر ته‌نشینی، حاوی ٢٩/٤٪ پروتئین بود. مقدار پروتئین بازیافتی در نمونهٔ کنترل با پروتئین بازیافتی در نمونه کنترل تحقیق حاضر مغایرت دارد.Bough وLandes(١٩٧٦)بر روی بازیافت و جداسازی پروتئین‌های مغذی از آب پنیر به‌وسیلهٔ کیتوزان مطالعه کردند.نتایج مطالعه این محققان نشان داد غلظت مواد جامد معلق پس از ته‌نشینی، بیش از ٩٠٪ کاهش پیدا کرد. همچنین ترکیبات مواد جامد معلق حاوی ٧٣٪ پروتئین بود که با تحقیق حاضر همخوانی دارد.



شکل٤: اثرتیمارهایموردمطالعهبرمیزان بازیافت پروتئین،حروفمتفاوتنشاندهندهتفاوتمعنیداردرسطح ٥ درصدمیباشد.

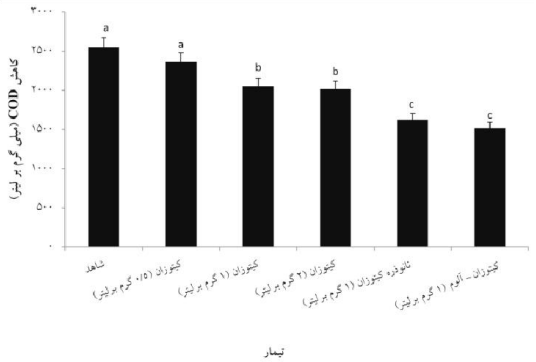
٥-٤-تأثیر کیتوزان، نانوذره کیتوزان و ترکیب کیتوزان-آلوم برCOD

شکل٥ نشان‌دهندهٔ نتایج مربوط به اثر تیمارهای مختلف بر میزان COD است. همان‌طور که در این شکل مشاهده می‌گردد، بیشترین میزان COD مربوط به تیمار کیتوزان ٠/٥ گرم بر لیتر (٢٣٦٠/٠٤ میلی‌گرم بر لیتر) است و کمترین میزان آن در تیمار ترکیب کیتوزان-آلوم (١٥١٦/١٤ میلی‌گرم بر لیتر) مشاهده گردید. همان‌طور که ملاحظه می‌گردد با افزایش غلظت کیتوزان مقدار COD روند کاهشی را طی می‌کند. نتایج نشان داد که در بین غلظت‌های مختلف کیتوزان، غلظت‌های ١ و ٢ گرم بر لیتر در مقایسه با کنترل به‌طورمعناداری میزان COD را کاهش می‌دهند. همچنین نتایج نشان می‌دهد که کاربرد ترکیب کیتوزان-آلوم و نانوذرات کیتوزان می‌تواندبه‌طورمعناداری میزان COD را در مقایسه با تیمارهای مختلف کیتوزان و

www.SID.ir

Archive of SID

شاهد کاهش دهـد. از نظـر میـزان کـاهش COD در بـین تیمارهای ترکیب کیتوزان-آلوم و نانوذرات کیتوزان تفاوت معنـــاداری وجـــود نـــدارد (p≤۰/۰۵).Dyrset و Selmer (۱۹۹۸) بـــا اســـتفاده از کیتـــوزان از پســـاب لبنیـــات، مکمل‌هایتغذیه‌ای را بازیافت کردند. در این کـار از طریـق اعمال کیتوزان میزان COD، ٤٩ تا ٨٢٪ کـاهش پیـدا کـرد. روند کاهش CODدر مطالعه این محققان با کـاهش COD در تحقیـق حاضـر مطابقـت دارد. Bough و همکـاران (۱۹۷۵) از کیتوزان برای کاهش و بازیافت مواد جامد معلق در فاضلاب فراوری ماکیان استفاده کردند. نتایج این مطالعه نشان داد اثرهای ترکیبی کیتوزان و دمیدن هوا، ذرات جامد معلق و COD را به‌ترتیب در فاضلاب سـرد ٨٢٪ و ٦٢٪ و در فاضلاب گرم٧٧٪ و ٤٦٪ کاهش داد.



شکل۵:اثرتیمارهایمورد‌مطالعهبرمیزانCOD،حروفمتفاوتنشاند هندهتفاوتمعنیداردرسطح ۵ درصدمی‌باشد.

۵-۵-پروفایل اسیدهای آمینه ضروری پروتئین بازیافت شده

بررسی پروفایـل اسـیدهای آمینـه نشـان داد کـه پـروتئین بازیافتیحاویاسـیدهایآمینه ضروریهیسـتیدین (۲/۸-۱/۸٪) ، لیـزین (٤-۳/۵٪)، متیـونین(۳-۱/۸٪)وفنیـل آلانـین (۲/۸-۱/۹٪)بـود.Wibowo و همکـاران (۲۰۰۳)، پـروتئین آب شست‌وشویسوریمی، پـودر مـاهی، سـبوس و ذرت را بـه لحاظ پروفایل اسیدهای آمینه ضروری بررسی کردند. طبق نتایج به‌دست آمده پروتئین آب شسـت‌وشـوی سـوریمی، پودر ماهی، سبوس و ذرت به‌ترتیب داری اسید آمینه لیزین به مقدار، ۹/٤٪، ٦٪، ۳/۷٪ و ۱/۵٪، هیسـتیدین، ۳٪، ۱/۸٪، ۱/۲٪ و ۱/۸٪، متیونین، ۳/۷٪، ۲/۵٪، ۰/۸٪ و ۲/۲٪ و فنیل آلانین، ۵/۱٪، ۲/۹٪، ۳/۱٪ و ٦/٤٪ بودند. در پـودر مـاهی لیزین(٦٪) بیشترین غلظـت را نسـبت بـه اسـیدهای آمینـه دیگر داشت. در مطالعه حاضر نیز نشان داده شد کـه اسـید آمینه لیزین دارای بیشترین درصد (٤-۳/۵ ٪) است.

٦- جمع‌بندی

کیتوزان یک پلیمـر زیسـتی اسـت کـه بـه‌دلیـل دارا بـودن خواص انعقادی و لخته کنندگی برای بازیافت پـروتئین در این مطالعه استفاده شد. با افزایش غلظت کیتوزان، پروتئین محلول، کدورت و COD کاهش یافت و این کاهش نسبت به نمونه شاهد معناداربود،اما غلظت‌های مختلف کیتوزان با داشتن یک روند کاهشی نسبت به یکـدیگر معنادارنبودنـد. در این بررسی ترکیب کیتوزان-آلوم و نـانوذرات کیتـوزان بیشترین بازیافت پروتئین را داشتند. بـا توجـه بـه معنـادار نبودن اثر نانوذرات کیتـوزان بـا ترکیـب کیتـوزان-آلـوم و اثرهای مخربی که آلوم بـر محـیط زیسـت بشـر دارد و بـا توجه به نتایج این تحقیـق، اسـتفاده از نـانوذرات کیتـوزان می‌تواند انتخاب مناسبی برای بازیافـت پـروتئین و تصـفیه پساب‌ها باشد. همچنین پروتئین بازیافت شده با استفاده از کیتـوزان مـی‌توانـد گزینهمناسـبی بـرای تغذیـه حیوانـات به‌عنوان منبع غذایی پروتئینی با توجه به غلظت پـروتئین و اسیدهای آمینه باشد.

۷- منابع

Amuda, O.S. and Ibrahim, A.O. 2006. Industrial wastewater treatment using natural materialas

www.SID.ir

Archive of SID

Jolles, P. and Muzzarelli,R. A. A. 1999. Chitin and chitinases.Birkhäuserp,Basel. 340p.

Jun, H.K., Kim, J.S., No, H.K. and Meyers, S.P. 1994. Chitosan as a coagulant for recovery of proteinaceous solids from Tofii wastewater.*Journal Of Agriculture and Food Chemistry*, 42: 1834.

Mallevialle, J., B.A. and Fiessinger, F. 1984. How safe are organic polymers in water treatment.*Journal Of American Water Works Association*, 76: 87-93.

McLachlan, D.R.C. 1995. Aluminium and the risk for alzheimer' s disease. *Journal OfEnvironmetrics*, 6: 233-275.

Meyers, S.P. and Chen, H.M. 1985. Process for utilization of shellfish waste.*Journal Of UsPatent*,4: 505-936.

Mireles, M.M., Bouzas, J. and Torres, JA. 1992. Complex formation of chitosan and naturally occurring polyanions.*Journal Of Advances in chitin and chitosan*, p. 506-15.

Moore KJ, J.M. and Sistrunk, WA. 1987. Effect of polyelectrolyte treatments on waste water strength of snap and dry bean wastewater. *Journal Of Food Science*, 52: 491-2.

No, H.K. and Meyers, S.P. 1989. Recovery of amino acids from seafood processing wastewater with a dual chitosan-based ligand-exchange system.*Journal Of Food Science*,54: 70.

Renaut, F., Badot, P.M. and Crini, G. 2009. Chitosan for coagulation/flocculation processes-An eco-friendly approach.*European Polymer Journal*, 45: 1332-1348.

Roeckel, M., and Marti, M. C. 1996. Achieving clean technology in the fish-meal industry by addition of a new process step.*Journal Of Chemistry Technology & Biotechnology*, 67: 96-104.

Savant, V.D. and Torres, J. A. 2003. Fourier transform infrared analysis of chitosan based coagulating agents for treatment of surimi waste water. *Journal Of Food Technology*, 7: 23-28.

Savant, V.D. and Torres, J.A. 2000. Chitosan based coagulating agents for treatment of cheddar cheese whey. *Journal Of Biotechnology Progress*, 16:1091-1097.

Savsnt, V.D. 2001. Protein adsorption on chitosan-polyanion complexes. application to aqueous food processing wastes. Ph. D. thesis, *Journal Of Food Science and Technology*, Oregon State University.

adsorbent. *African Journal of Biotechnology,* 5(16): 1483-1487.

Bough, W.A. and Landes, D. R. 1976. Recovery and nutritional evalution of proteinaceous solids separated from whey by coagulation with chitosan. *Journal Of Dariy Science*,59: 1874-1880.

Bough, W.A., Shewfelt, AL. and Salter, W.L. 1975. Use of chitosan for the reduction and recovery of solids in poulty processing waste effluents (feed supplements). *Journal Of poulty Science*,54: 992-1000.

Bradford, M.M. 1976. Arapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Journal Of AnalyticalBiochemistry*, 72: 248-254.

Cohen, S.A., Meys, M. and Tarvin, T. 1989. The pico-tag method. A Manual of Advance Techniquesfor Amino Acid Analysis. Waters Chromatography Division, Milford, MA. 124 pp.

Dyrset, N., Selmer-Oslen, E., Havrevoll, O., Ratnaweera, H., Storro, I. and Birkeland, S. E. 1998. Feed supplement recovered from dairy wastewater by biological and chemical pretreatment. *Journal Of Chemistry and Technology and Biotechnology*, 73: 175-182.

Gautam, P. Madathil, D. and BrijeshNair, A. N. 2013. Nanotechnologyin waste water treatment: a review,*International Journal of ChemTech Research*. 5(5): 2303‑2308.

Ghadi, A., Mahjoub, S., Tabandeh, F. and Talebnia, F. 2014. Synthesis and optimization of chitosan nanoparticles: Potential applications in nanomedicine and biomedical engineering. *Caspian Journal of Internal Medicine,*5(3): 156–161.

Guerrero, L., Omil, F., Méndez, R. and Lema, J.M. 1998. Protein recovery during the overall treatment of wastewater from fish-meal factories.*Journal Of Biotechnology Progress*, 63: 221-229.

Hu, J., Chen, G. and Lo I.M.C. 2005. Removal and recovery of Cr(VI) from wastewater by maghemite nanoparticles. *Water Research*, 39(18): 4528‑4536.

Johnson, R.A. and Gallanger, S.M. 1984. Use of coagulants to treat seafood processing waste waters.*Journal OfWater Pollution Control Federation*, 56: 970-976.

www.SID.ir

Archive of SID

Selmer-Oslen, E., Ratnaweera, H. C. and Pehrson, R. 1996.A novel treatment process for dairy wastewater with chitosan produced from shrimp shell waste.*Journal Of Water and Scienceand Technology*, 34: 33-40.

Shahidi, F. and Synowiecki, J. 1991. Isolation and characterization of nutrients and value-added products from snow crab (Chinoecetes opilio) and shirimp (Pandalus borealis) processing discards.*Journal Of Agriculture and Food Chemistry*, 39: 1527-1532.

Shahidi, F., Arachchi, J.K. and Jeon, Y.J. 1999. Food applications of chitin and chitosans. *Journal Of Trends in Food Science and Technology*, 10: 37-51.

Sivakamia, M.S. Gomathib, T. Venkatesanc, J. Jeongc, H.S. Kimc, S.K. Sudhaa, P.N. 2013. Preparation and characterization of nano chitosan for treatment wastewaters. *International Journal of Biological Macromolecules*, 57 (2013) 204– 212.

Sunny, N. and Mathai, L. 2013. Physicochemical Process for Fish Processing Wastewater, *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 2(4): 901-905.

Wibowo, S., Savant, V., Cherian, G., Savage, T. and Torres, A. 2003. A rat feeding study to determine the safety and nutritional value of surimi wash water solids recovered using a chitosan-alginate complex. [phd dissertation], Corvallis, OR: Oregon State Univ. 142pp.

Wibowo, S., Velazquez, G., Savant, V. and Torres, J.A. 2005. Surimi wash water treatment for protein recovery: effect of chitosan-alginate complex concentration and treatment time on protein adsorption,*Bioresource Technology*. 96(6):665-71.

Yusmaniar .2014. Treatment of wastewater printing ink by process coagulation using chitosan nanoparticles, *International Journal of Management, Information Technology and Engineering*. 2(7): 35-44.

Zemmouri, H., Drouache, M., Sayeh, A., Lounici, H. and Mameri, N. 2013. Chiosan application for treatment of Beni-Amrane's water dam. *Journal Of Energy Procedia*, 36: 558-564.

www.SID.ir

Archive of SID

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal Vol. 4, No. 2, Summer 2015

Effects of chitosan, chitosan nanoparticles and chitosan- aluminum sulfate composition on protein recovery from fish meal plant effluent

Sara Reisi[1*], Alireza Alishahi [1], Bahareh Shabanpour[1]

1-M.Sc. Graduated, The University of Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources of Gorgan, Gorgan

2- Assistant Prof., The University of Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources of Gorgan, Gorgan

3- Professor, The University of Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources of Gorgan, Gorgan

[*]Corresponding author: sara.reesy@yahoo.com

Abstract

The aim of this study, in the first step, was to recover the protein content in wastewater of fish meal factories using chitosan, chitosan nanoparticles and chitosan-aluminum sulphate composition. In the second step, the extracted protein was assessed for its essential amino acids profile. Also, the reduced amount of proteins in the waste water was evaluated by measuring different parameters such as turbidity, pH, COD. Finally, chitosan nanoparticles characteristics were investigated using atomic force microscopy. Results showed that turbidity, COD and soluble protein significantly decreased upon adding different concentrations of chitosan, nanoparticle of chitosan and chitosan-alum ($p<0.05$). The maximum protein recovery was related to chitosan-alum composition and chitosan nanoparticles with no significant difference between these two treatments. Evaluation of recovered protein in term of amino acids profiles showed that there were essential amino acids such as histidine, lysine, methionine and phenylalanine in protein of fish meal wastewater.

Keywords: Chitosan nanoparticles, Aluminum sulphate, Recovery of protein, Fish meal wastewater

www.SID.ir