

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

سارا رئیسی<sup>۱\*</sup>، علیرضا عالیشاهی<sup>۲</sup> و بهاره شعبانپور<sup>۳</sup>

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 پذیرش: ۹۴/۰۳/۰۵

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۴/۱۴

\*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، ویژگی‌های 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 به وسیله میکروسکوپی نیروی اتمی نشان داد که این نانوذرات دارای شکل کروی با سطح ناهموار و قطر متوسط ۴۰ 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 معنی‌داری نداشتند ( $p \geq 0.05$ ). بررسی پروتئین بازیافت شده از لحاظ پروفایل اسیدهای آمینه ضروری نشان داد که در پروتئین پساب پودر ماهی، اسیدهای آمینه نظیر هیستیدین، لیزین، متیونین و فنیل آلانین وجود دارد.

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

## ۱-مقدمه

پودر ماهیبهترین و گران قیمتترین بخش پروتئینیخوراکهمحیوانات است. بسته به نوع مواد اولیهکار برده شده، بهطور کلی دونوع فرایند تولیدپودر ماهیوجود دارد: نوع اول که در تولید آن از لاشه ماهیان استفاده می شودمانندسر، استخوانو یا دیگر مواد زائد، و نوع دوم که از ماهیکامل استفاده می شود. فاضلابتولید شده توسطاین کارخانههاحاوی بار مواد آلیالا ( $120\text{g COD}^1/\text{L}$  -  $30$ ) است که بخش مهمی از آنها رامواد جامد معلق ( $40\text{VSS}^2/\text{L}$ ) تشکیل می دهند. ترکیباین پسابهابستگی بهماهیتمواد خامفرآوری شدهدر کارخانه داردکهبه طور عمده ازپروتئینحدود  $72\%$ ، چربیومحتوایکربوهیدرات به ترتیبحدود  $21\%$  و  $7\%$  تشکیل شده است (Mathai, 2013; Sunny and Marti, 1996; Roeckel and Mathai, 2013). پساب تولید شده در کارخانه پودر ماهیمعمولاً به محیط اطراف کارخانه رهاسازی می شود. با این کار COD محیط افزایش می یابد و تأثیراتنامطلوبی را بر محیطزیست منطقه دارد. گاهی پساب را در حوضچههای تبخیر رها می کنند تا پساب تبخیر شود که این کار نیازمند یک فضای فیزیکی است و معمولاً کارخانجات با محدودیت این فضا مواجه اند. در صورت کم بودن فضا روند تولید با وقفه روبهرو می شود و سرعت تولید را کاهش می دهد. بازیافت پروتئین می تواند راه حل مناسبی برای رفع این مشکلات باشد. همچنین با بازیافت پروتئین و بازگشت آن به چرخه تولید می تواند 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 برمی گردد. سالها بعد در انگلستان در سال ۱۷۶۷، مردم عادی برای زلال سازی آب های گل آلود از این ماده استفاده کردند و در سال ۱۸۸۴ نیز اولین امتیاز انعقاد به وسیله پرکلراید آهن در شرکت آب نیواورلئان به ثبت رسید و یک سال بعد دانشگاه روتگرز<sup>۳</sup> نتایج اولین تحقیقات خود را در مورد آلوم به عنوان یک منعقدکننده منتشر کرد. حاصل تحولات یاد شده این بود که عمل انعقاد به عنوان پیش فرایندی که فیلتراسیون را کامل خواهد کرد، شناخته شد. توانایی سولفات آلومینیوم در ته نشینی مواد کلوئیدی و حذف کدورت از آب و پساب سبب شده از آن به صورت تجاری در تصفیه آبها استفاده شود. باوجود مزیت هایی که سولفات آلومینیوم در تصفیه آب دارد، پیامدهای زیست محیطی از قبیل، بروز بیماری آلزایمر و بیماری های سرطانی (Mclachlan, 1995) و تولید حجم زیادی از رسوبها (Renaut, 2009) را در پی دارد. در حالی که، کیتوزان یک پلیمر زیستی با بار مثبت است که از این-داستیلایسونکیتیتینحاصل می شود و بعد از سلولز فراوانترین پلی ساکارید در طبیعت است (Jolles and Muzzarelli, 1999). استفاده از کیتوزان به عنوانیک عامل انعقادبرای از بین بردنمواد جامد معلق از جریانهایآب پنیرو آب شستشوی فرآورده های لبنی (Bough and Landes, 1976; Savant and Torres, 2000; Selmer-Oslen et al., 1996; Dyrset et al., 1998)، فراوریمایکیان (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 سزیجات (Bough, 1975; Moor et al., 1987) مطالعه شده است. Johnson

1Chemical Oxygen Demand  
2Volatile Suspended Solids

Gallanger (۱۹۸۴)، برتری کیتوزان را در مقایسه با منعقدکننده های شیمیایی دیگر مانند سولفات فریکدر بهبود پساب حاصل از میگو، خرچنگو ماهی آزاد گزارش کردند و به حذف ۹۰٪ مواد جامد محلول دست یافتند. از آنجا که کیتوزان زیست تخریب پذیر و غیر سمی است، به عنوان یک گزینه مناسب برای بازیافت پروتئین پساب ها است. کیتوزان در حالت محلول به علت داشتن گروه آمین ( $\text{NH}_2$ ) بر روی کربن شماره ۲، یک پلیمر با بار مثبت است که به آسانی با پلی آنیون ها مانند آلژینات، کاراگینان و پکتین در اثر برهم کنش الکترواستاتیک بین گروه های کربوکسیل ( $\text{COO}^-$ ) و تری اکسید گوگرد ( $\text{SO}_3$ ) واکنش می دهد و سبب تشکیل ساختمان های پلیمری بزرگ می شود (Mireles et al., 1992). از آنجا که کیتوزان در تصفیه پساب با قابلیت مناسبی برخوردار است، بنابراین با توجه به آنچهد که رشد این احتمال وجود دارد که نانوذرات کیتوزان از آنجا قابلیت بیشتری نسبت به کیتوزان در تصفیه پساب برخوردار باشند. هدف این تحقیق استفاده از پلیمر زیستی کیتوزان در غلظت های مختلف، نانوذرات کیتوزان و ترکیب کیتوزان-آلوم در بازیافت پروتئین از پساب کارخانه پودر ماهی برای کاهش پیامدهای زیست محیطی است، همچنین پلیمر زیستی کیتوزان به دلیل دسترسی آسان و عدم خطرهای زیست محیطی فرصت استفاده از پروتئین بازیافت شده را در جیره غذایی حیوانات فراهم می کند.

## ۲- مواد و روش

### ۲-۱- جمع آوری پساب پودر ماهی و تولید تیمارهای مختلف

پساب حاصل از تولید \_\_\_\_\_ پودر ماهی از کارخانه گینیپودر واقع در شهر کصنعتی شهر در مهر ماه \_\_\_\_\_ سال ۹۲ جمع آوری

و به آزمایشگاه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقله شد. در ابتدا پساب از لحاظ ویژگی های 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 به عنوان 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- استیلایسیون ۹۰٪ و وزن مولکولی ۲۰ kDa از شرکت سیگما خریداری شد. پس از افزودن کیتوزان به پساب، سوسپانسیون ها در یک دستگاه تکان دهنده برای مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت تا با هم ترکیب شوند و سپس در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد برای مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد (Savant and Torres, 2003). پس از رسوب مواد معلق مابعد سطحی جدا گردید و سپس شاخص های 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 (۰/۲۵ گرم برلیتر) در آب مقطر حل 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). سپس ویژگی های نانوذرات کیتوزان با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) بررسی شد.

### ۳- آزمایش های شیمیایی

**۳-۱- اندازه گیری pH**

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

**۳-۲- اندازه گیری کدورت**

کدورت پساب پودر ماهی تولیدی با استفاده از دستگاه کدورت سنج (Wagtech, WE30140, England) که با ۴ محلول استاندارد ۰/۰۲، ۰/۲۰، ۱۰۰ و ۸۰۰ کالیبره شده است، اندازه گیری شد. بدین منظور ۱۰ میلی لیتر 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 برای یک نفلومتر کالیبره شده را واحد کدورت نفلومتری (NTU<sup>۱</sup>) می نامند.

**۳-۳- اندازه گیری پروتئین**

مقدار پروتئین روش Bradford (۱۹۷۶) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom, libra s 12, England) در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه گیری گردید.

**۳-۴- اندازه گیری COD**

به میزان ۲ سی سی از پساب با پیپت برداشته و در ویال- COD ریخته و خوب هم زده شد. نمونه ها در رآکتور COD در دمای ۱۴۸ درجه سانتی گراد به مدت ۲ ساعت در دستگاه باقیماند. سپس دستگاه خاموش و نمونه ها خارج شده تا ویال ها خنک شوند. پس از خنک شدن نمونه ها آنها را در دستگاه فوتومتر قرار داده تا میزان COD موجود در آن قرائت شود (Amuda and Ibrahim, 2006).

**۳-۵- اندازه گیری آمینو اسید**

بدین منظور نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت با محلول اسید هیدروکلریک (۶N) در دمای ۱۱۲ درجه سانتی گراد

هیدرولیز گردید. نمونه ها پس از اشتقاق با معرف فنیل ایزوتیوسیانات به روش گاز کروماتوگرافی و با استفاده از دستگاه HPLC مدل Waters auto sample (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 نرم افزار Waters و مقایسه با نتایج حاصل از نمونه استاندارد اسید آمینه (Pierce NC10180) به دست آمد.

**۴- آماده سازی نهایی****۴-۱- میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM)**

AFM برای تجسم طبیعت ناهموار نانوذرات کیتوزان استفاده شد (Ghadi et al., 2014). مورفولوژی نانوذرات توسط AFM و با استفاده از دستگاه ARA-AFM ساخت ایران انجام شد. برای آماده سازی نمونه ها برای تصویربرداری، ۱۵ میکرو لیتر از نانوذره کیتوزان بر روی گریدهای مخصوص AFM ریخته شد و پس از خشک شدن، توسط میکروسکوپ بررسی گردید.

**۴-۲- تجزیه و تحلیل آماری**

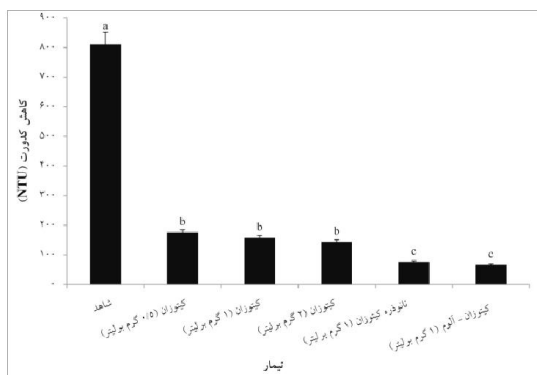
برای تجزیه و تحلیل های آماری از نرم افزار SPSS استفاده گردید. از آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) برای تشخیص وجود اختلاف بین نمونه شاهد و نمونه های تحت تأثیر غلظت های مختلف کیتوزان استفاده شد. مقایسه میانگین پروتئین، کدورت و COD به کمک آزمون چند دامنه دانکن صورت گرفت. وجود اختلاف معناداری در سطح احتمال ۵ درصد تعیین شد.

**۵- نتایج و بحث**

**۵-۱- بررسی مورفولوژی نانوذرات کیتوزان به وسیله میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM)**

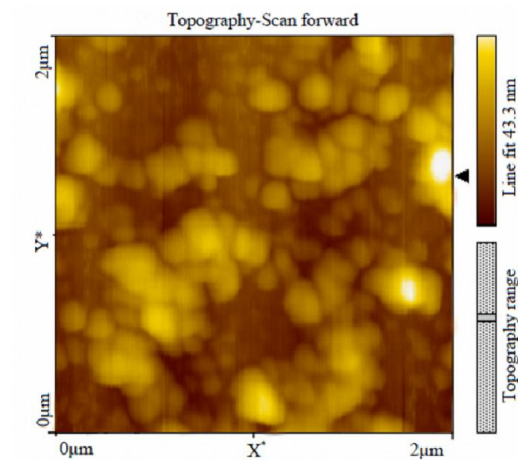
<sup>1</sup>Nephelometric Turbidity Unit

کدورت اولیه (شاهد) آن ۸۱۱ NTU بود که این مقدار در تیمار کیتوزان ۰/۵ گرم بر لیتر برابر با ۱۷۵/۷۴ NTU بود و با افزایش غلظت کیتوزان مقدار آن کاهش یافت به طوری که در تیمار کیتوزان ۲ گرم بر لیتر مقدار آن به ۱۴۳/۵۳ NTU رسید. بیشترین مقدار کاهش کدورت ۶۶/۰۳ NTU (۹۱/۸۵٪) در استفاده از ترکیب کیتوزان-آلوم مشاهده گردید (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 ( $p \leq 0/05$ ) و Zemmouri همکاران (۲۰۱۳) کدورت بالای آب سد را از طریق کیتوزان به عنوان منعقدکننده اولیه و کمک منعقدکننده با سولفات آلومینیوم بررسی کردند. این فرایند به وسیله اندازه‌گیری کدورت آب رویی ارزیابی شد. نتایج آنها نشان داد که غلظت‌های پایین کیتوزان به میزان ۸۵٪ میزان کدورت را کاهش دادند در حالی که استفاده از ترکیب کیتوزان-آلوم به میزان ۹۷٪ کدورت را کاهش داد. نتایج فوق با نتایج حاصل از این تحقیق همخوانی دارد.

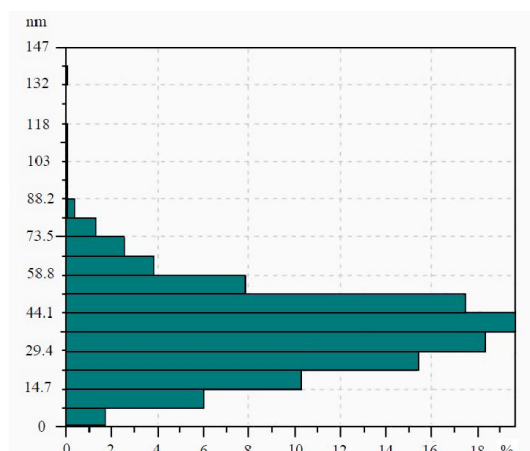


شکل ۳ اثر تیمارهای مورد مطالعه بر روی کدورت، حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد می باشد.

بررسی مورفولوژی نانوذرات کیتوزان به وسیله میکروسکوپ نیرو اتمی نشان داد که این نانوذرات دارای شکل کرومیتیک ناهموار هستند و قطر متوسط ذرات ۴۰ نانومتر بود (شکل ۱ و ۲).



شکل ۱ تصویر AFM نانوذرات کیتوزان

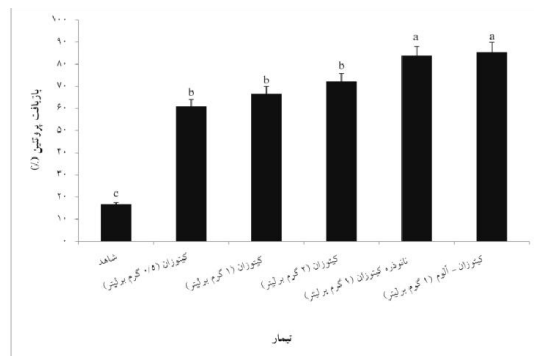


شکل ۲ توزیع اندازه ذرات نانوذرات کیتوزان

## ۲-۵ 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 ۶/۵-۵/۹ بود. همچنین در بررسی میزان کدورت در پساب مورد مطالعه مشخص گردید که میزان

کردند. نتایج مطالعه این محققان نشان داد غلظت مواد جامد معلق پس از ته‌نشینی، بیش از ۹۰٪ کاهش پیدا کرد. همچنین ترکیبات مواد جامد معلق حاوی ۷۳٪ پروتئین بود که با تحقیق حاضر همخوانی دارد.



شکل ۴: اثر تیمارهای مورد مطالعه بر میزان باز یافت پروتئین، حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد می باشد.

#### ۵-۴- تأثیر کیتوزان، نانوذره کیتوزان و ترکیب کیتوزان-

##### آلوم بر COD

شکل ۵ نشان دهنده نتایج مربوط به اثر تیمارهای مختلف بر میزان COD است. همان‌طور که در این شکل مشاهده می‌گردد، بیشترین میزان COD مربوط به تیمار کیتوزان ۰/۵ گرم بر لیتر (۲۳۶۰/۰۴ میلی‌گرم بر لیتر) است و کمترین میزان آن در تیمار ترکیب کیتوزان-آلوم (۱۵۱۶/۱۴ میلی‌گرم بر لیتر) مشاهده گردید. همان‌طور که ملاحظه می‌گردد با افزایش غلظت کیتوزان مقدار COD روند کاهش را طی می‌کند. نتایج نشان داد که در بین غلظت‌های مختلف کیتوزان، غلظت‌های ۱ و ۲ گرم بر لیتر در مقایسه با کنترل به‌طور معناداری میزان COD را کاهش می‌دهند. همچنین نتایج نشان می‌دهد که کاربرد ترکیب کیتوزان-آلوم و نانوذرات کیتوزان می‌تواند به‌طور معناداری میزان COD را در مقایسه با تیمارهای مختلف کیتوزان و

#### ۵-۳- تأثیر کیتوزان، نانوذره کیتوزان و ترکیب کیتوزان-

##### آلوم بر پروتئین محلول

نتایج مربوط به باز یافت پروتئین تحت تیمارهای مختلف در شکل ۴ ارائه شده است. همان‌طور که در این شکل مشاهده می‌شود بیشترین باز یافت پروتئین مربوط به تیمار کیتوزان-آلوم (۸۵/۵۶٪) است. باز یافت پروتئین توسط کیتوزان در غلظت ۰/۵ گرم بر لیتر ۶۱/۱۱٪ بود که با افزایش غلظت کیتوزان این مقدار افزایش یافت به طوری که در غلظت ۲ گرم بر لیتر به مقدار ۷۲/۲۲٪ رسید. نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف کیتوزان به‌طور معناداری باعث افزایش باز یافت پروتئین نسبت به تیمار شاهد می‌شدند، در صورتی که بین غلظت‌های مختلف کیتوزان در میزان پروتئین باز یافتی تفاوت معناداری وجود نداشت (۰/۰۵ < p). همچنین نتایج نشان دهنده وجود تفاوت معنادار بین تیمارهای کیتوزان-آلوم و نانوذرات کیتوزان با تیمارهای شاهد و غلظت‌های مختلف کیتوزان بود، در صورتی که از نظر میزان باز یافت پروتئین بین تیمارهای ترکیب کیتوزان-آلوم و نانوذرات کیتوزان تفاوت معناداری ملاحظه نشد (۰/۰۵ < p). Bough و همکاران (۱۹۷۵) از کیتوزان برای کاهش و باز یافت مواد جامد معلق در فاضلاب فرآوری ماکیان استفاده کردند. بهبود ضایعات حاصل از فرآوری ماکیان به وسیله کیتوزان به عنوان یک عنصر انعقادی، ذرات معلق جامد را در ترکیبات فاضلاب ۹۴-۷۴٪ کاهش داد. ضایعات فرآوری ماکیان که تحت تأثیر کیتوزان قرار گرفتند حاوی ۵۴٪ پروتئین و در نمونه کنترل بدون اعمال کیتوزان و فقط تحت تأثیر ته‌نشینی، حاوی ۲۹/۴٪ پروتئین بود. مقدار پروتئین باز یافتی در نمونه کنترل با پروتئین باز یافتی در نمونه کنترل تحقیق حاضر مغایرت دارد. Bough و Landes (۱۹۷۶) بر روی باز یافت و جداسازی پروتئین‌های مغزی از آب پنیر به وسیله کیتوزان مطالعه

نتایج به دست آمده پروتئین آب شست و شوی سوریمی، پودر ماهی، سبوس و ذرت به ترتیب داری اسید آمینه لیزین به مقدار، ۹/۴٪، ۶٪، ۳/۷٪ و ۱/۵٪، هیستیدین، 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 ۶/۴٪ بودند. در پودر ماهی لیزین (۶٪) بیشترین غلظت را نسبت به اسیدهای آمینه دیگر داشت. در مطالعه حاضر نیز نشان داده شد که اسید آمینه لیزین دارای بیشترین درصد (۴-۳/۵٪) است.

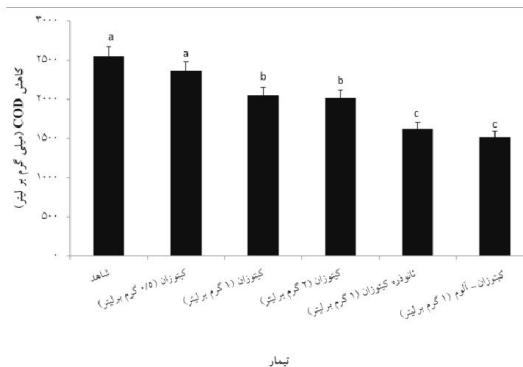
### ۶- جمع بندی

کیتوزان یک پلیمر زیستی است که به دلیل دارا بودن خواص انعقادی و لخته کنندگی برای بازیافت پروتئین در این مطالعه استفاده شد. با افزایش غلظت کیتوزان، پروتئین محلول، کدورت و COD کاهش یافت و این کاهش نسبت به نمونه شاهد معنادار بود، اما غلظت‌های مختلف کیتوزان با داشتن یک روند کاهشی نسبت به یکدیگر معنادار نبودند. در این بررسی ترکیب کیتوزان-آلوم و نانوذرات کیتوزان بیشترین بازیافت پروتئین را داشتند. با توجه به معنادار نبودن اثر نانوذرات کیتوزان با ترکیب کیتوزان-آلوم و اثرهای مخربی که آلوم بر محیط زیست بشر دارد و با توجه به نتایج این تحقیق، استفاده از نانوذرات کیتوزان می‌تواند انتخاب مناسبی برای بازیافت پروتئین و تصفیه پساب‌ها باشد. همچنین پروتئین بازیافت شده با استفاده از کیتوزان می‌تواند گزینه مناسبی برای تغذیه حیوانات به عنوان منبع غذایی پروتئینی با توجه به غلظت پروتئین و اسیدهای آمینه باشد.

### ۷- منابع

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

شاهد کاهش دهد. از نظر میزان کاهش COD در بین تیمارهای ترکیب کیتوزان-آلوم و نانوذرات کیتوزان تفاوت معناداری وجود ندارد ( $p \leq 0.05$ ). Selmer و Dyrset (۱۹۹۸) با استفاده از کیتوزان از پساب لبنیات، مکمل‌های تغذیه‌ای را بازیافت کردند. در این کار از طریق اعمال کیتوزان میزان COD، ۴۹ تا ۸۲٪ کاهش پیدا کرد. روند کاهش COD در مطالعه این محققان با کاهش COD در تحقیق حاضر مطابقت دارد. Bough و همکاران (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 به ترتیب در فاضلاب سرد ۸۲٪ و ۶۲٪ و در فاضلاب گرم ۷۷٪ و ۴۶٪ کاهش داد.



شکل ۵: اثر تیمارهای مورد مطالعه بر میزان COD، حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

۵-۵- پروفایل اسیدهای آمینه ضروری پروتئین بازیافت شده بررسی پروفایل اسیدهای آمینه نشان داد که پروتئین بازیافتی حاوی اسیدهای آمینه ضروری هیستیدین (۲/۸-۱/۸٪)، لیزین (۴-۳/۵٪)، متیونین (۳-۱/۸٪) و فنیل آلانین (۲/۸-۱/۹٪) بود. Wibowo و همکاران (۲۰۰۳)، پروتئین آب شست و شوی سوریمی، پودر ماهی، سبوس و ذرت را به لحاظ پروفایل اسیدهای آمینه ضروری بررسی کردند. طبق

- 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.
- Mallevalle, 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 Of Environmetrics*, 6: 233-275.
- Meyers, S.P. and Chen, H.M. 1985.** Process for utilization of shellfish waste. *Journal Of Us Patent*, 4: 505-936.
- Mireles, M.M., Bouzas, J. and Torres, J.A. 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, W.A. 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.
- Savnt, 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 evaluation of proteinaceous solids separated from whey by coagulation with chitosan. *Journal Of Dairy Science*, 59: 1874-1880.
- Bough, W.A., Shewfelt, A.L. and Salter, W.L. 1975.** Use of chitosan for the reduction and recovery of solids in poultry processing waste effluents (feed supplements). *Journal Of poultry Science*, 54: 992-1000.
- Bradford, M.M. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Journal Of Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Cohen, S.A., Meys, M. and Tarvin, T. 1989.** The pico-tag method. A Manual of Advance Techniques for 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 Brijesh Nair, A. N. 2013.** Nanotechnology in 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 Of Water Pollution Control Federation*, 56: 970-976.



**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 (*Chionoecetes 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.



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

Sara Reisi<sup>1\*</sup>, Alireza Alishahi<sup>1</sup>, Bahareh Shabanpour<sup>1</sup>

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