



**معاونت پژوهش و فناوری**

**گزارش نهایی طرح تحقیقاتی**

**اثر رامنولپیدها بر ویژگی بیماری زایی**

**میکروارگانیزم های موجود**

**در کمپوست های آلی**

**مجری طرح:**

**دکتر سیامک قضائی**

**گروه تکنولوژی تولیدات دامی**

**دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان**

**این طرح، با تصویب و حمایت مالی حوزه معاونت پژوهش**

**دانشگاه محقق اردبیلی اجرا گردیده است.**

**۱۳۹۹**

## چکیده:

**زمینه و هدف:** کمپوست پسماندهای آلی تجزیه شده حاصل فرایند پوسش هستند در اثر فعالیت میکروارگانیسم های موجود در توده مواد آلی، تجزیه می شوند و به حالت نسبتاً پایدار در می آیند. به دلیل اینکه کمپوست به طور عمده از مواد دفعی و زائد شهری حاصل می شود، لذا امکان وجود میکرب های پاتوژن در ماده اولیه کمپوست وجود دارد. تخریب عوامل بیماری زا پارامتر مهم در طراحی فرآیند کمپوست سازی می باشد، لذا مطالعه حاضر با هدف اثر رامنولیبیدها بر ویژگی بیماری زایی میکروارگانیسم های موجود در کمپوست های آلی انجام گردید.

**روش بررسی:** به منظور جدا کردن سویه های باکتریایی پاتوژن از ماده کمپوست، نمونه برداری از پروسه تولید کمپوست در کارخانه تولید کمپوست اردبیل انجام گرفت و جدا سازی به روش رقت سازی سریالی به انجام رسید. فعالیت ضد میکروبی رامنولیبید بر اساس انتشار در آگار به شیوه کربی بائر مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین کمترین غلظت بازدارندگی (MIC) و کمترین غلظت باکتری کشی (MBC) نیز بررسی گردید.

**یافته ها:** در نتیجه جداسازی و شناسایی سویه های باکتریایی از کمپوست، ۸ سویه جداسازی شدند که شامل این باکتری ها بودند: *باسیلوس استتارو ترموفیلوس*، *باسیلوس برویس*، *باسیلوس لشنی فورمیس*، *بردتلا پتری*، *انتروکوکوس فیکالیس*، *انتروکوکوس آئروژنز*، *اشرشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* بودند. نتایج به دست آمده به روش انتشار چاهک نشان داد، بیشترین اثر مهاري رامنولیبید متعلق به *باسیلوس استتارو ترموفیلوس* به میزان ۳۱/۵ میلی متر و کمترین میزان مهاري رامنولیبید متعلق به *بردتلا پتری* به میزان ۱۸ میلی متر بود. بر اساس نتایج به دست آمده از روش حداقل غلظت مهارکنندگی رامنولیبید، بیشترین اثر را روی باکتری های *بردتلا پتری*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *باسیلوس لشنی فورمیس* نشان داد (۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر) و بر روی سایر جدایه ها دارای اثر یکسانی بود. رامنولیبید کمترین اثر را روی *انتروکوکوس آئروژنز* نشان داد (۲۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر).

**نتیجه گیری:** بررسی ها نشان می دهند که استفاده از رامنولیبیدها به عنوان عوامل ضد میکروبی جهت از بین بردن میکروب های بیماریزای انسانی در کمپوست به عنوان راه کاری مهم و عملی، منطقی و قابل قبول است.

کلمات کلیدی: رامنولیبید، کمپوست، میکروارگانیسم، اردبیل

## فصل اول:

### مقدمه و هدف

## ۱-۱- مقدمه

کمپوست پسماندهای آلی تجزیه شده حاصل فرایند پوسش هستند در اثر فعالیت میکروارگانیسم های موجود در توده مواد آلی ، تجزیه می شوند و به حالت نسبتاً پایدار در می آیند . به دلیل آنکه که کمپوست به طور عمده از مواد دفعی و زاید شهری بدست می آید، لذا احتمال وجود میکروارگانیسم های بیماری زا در ماده اولیه کمپوست وجود دارد. تخریب عوامل بیماری زا پارامتر مهم در طراحی فرآیند کمپوست سازی می باشد ، از این رو ، به منظور بهبود کیفیت کمپوست و از بین بردن باکتری های پاتوژن بسیاری از محققان سعی می کنند از رامنولپیدها برای ایجاد کمپوست استفاده کنند . رامنولپیدها می توانند از طریق واکنش با در پروتئین های میکروبی باعث تغییر ساختار آنزیمی و در نتیجه، تغییر فعالیت آنها شوند. این ترکیبات روی برخی از میکروارگانیسم ها اثر کشنده دارند؛ به طوری که می توان از آنها به عنوان عوامل ضد میکروبی جهت از بین بردن میکروبهای بیماریزای انسانی دارد.

## ۱-۲- سورفاکتانت

سورفاکتانت ها به مواد سطحی اطلاق می شود که در سال ۱۹۵۰ از واژه فعال کننده سطح، مشتق شده است. این مواد آمفی فیلیک می باشند که در روی سطح تراکم یافته و باعث کاسته شدن خاصیت کشش سطحی و میان سطحی (کشش بین مولکول های قطبی و غیرقطبی)، می شوند و از این طریق باعث افزایش حلالیت و تحرک ترکیبات آلی نامحلول و یا هیدروفوب می شوند و ساختمان متراکم مانند مسیلی را بوجود می آورند. از این مواد در صنایع گوناگون مانند صنایع غذایی، دارویی، خانگی و نفتی در سنتز و تهیه دتر جنت ها، رنگ های نقاشی و چسب ها،... و یا به منظور تغییر در خاصیت کشش سطحی، مرطوب کنندگی، کف کنندگی، ایجاد ثبات در حالت امولسیون فاز دوم، تخریب امولسیون در تصفیه نمودن برش های نفتی، پخش کنندگی، تولید امولسیون ، مواد ضد عفونی کننده و... استفاده می شود.

بعضی از سورفکتانت ها، برای حیوان ، انسان، و اکوسیستم دارای خاصیت سمی بوده و باعث گسترش آلودگی در محیط زیست می گردند، با این حال، بیشتر با استفاده از روش های مختلف، در سیستم های آبی و یا بر روی زمین، مورد استفاده واقع می شوند.

از مهم ترین خصوصیات سورفکتانت ها، از بین بردن امولسیون ها یعنی قطرات یا حباب های کوچک حاصل از یک مایع در مایع دیگر تشکیل می گردد (۱-۲).

مولکول سورفکتانت از دو نیمه تشکیل شده است:


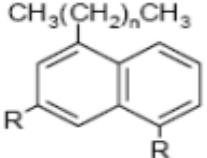
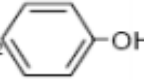
۱. لیپوفیل یا هیدروفوب ، که متشکل از رادیکال هیدروکربن و در آب نامحلول میباشد. جدول ۱-۱، گروه های هیدروفوب رایج را نشان می دهد.

۲. هیدروفیل ، که متشکل از موادی از جنس فلزات قلیایی یا بنیان های دیگر است و در آب محلول می شود. جدول ۱-۲، گروه های هیدروفیل رایج را نشان می دهد.

ویژگی مولکولی سورفکتانت ها نیز مرهون این طبیعت "هیدروفیلی/ هیدروفوبی" آنها می باشد. سورفکتانت ها می توانند به صورت میسل ، میسل های معکوس، به فرم مجتمع، به صورت میسل های طویل ، به صورت دو لایه ای و یا به صورت وزیکولی درآیند شکل (۱-۱) (۳-۲).

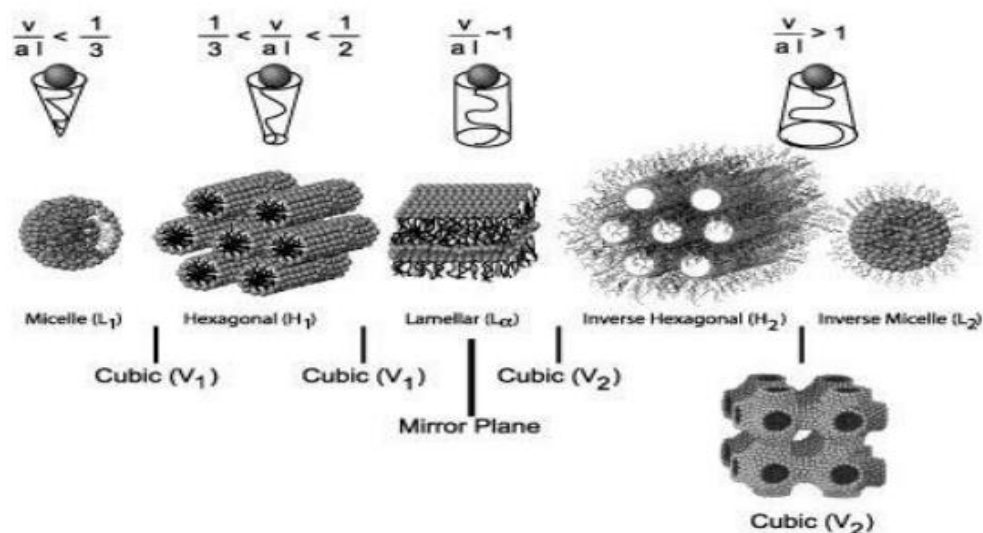
جدول (۱-۱) گروه های هیدروفوب که به طور معمول در سورفکتانت های تجاری مورد استفاده است.

جدول ۱-۱- گروه های هیدرو فوب رایج در سورفکتانت های تجاری موجود

گروه	ساختار عمومی	
اسیدهای چرب طبیعی	$CH_3(CH_2)_n$	$n = 12-18$
الفین ها	$CH_3(CH_2)_nCH=CH_2$	$n = 7-17$
آلکیل بنزن ها	$CH_3(CH_2)_nCH_2$ 	خطی و یا شاخه ای $n = 6-10$
آلکیل آروماتیک ها	 $CH_3(CH_2)_nCH_3$	در حل شونده آب $n = 1-2$ برای سورفکتانت های حل شونده روغنی $n = 8-9$
آلکیل فنل ها	$CH_3(CH_2)_nCH_2$ 	خطی و یا شاخه ای $n = 6-10$
پلی اکسی پروپیلن	$CH_3CH(CH_2)_nO(CH_2CH_2)_n$ X	$n =$ درجه الیگومریزاسیون X = آغازگر الیگومریزاسیون
فلوروکربن ها	$CF_3(CF_2)_nCOOH$	خطی و یا شاخه ای $n = 4-8$
سیلیکون ها	$CH_3O(Si(CH_3)_2)_nCH_3$	

جدول ۱-۲- گروه های هیدروفیل معمول که در سورفکتانت های تجاری مورد استفاده است.

ساختار عمومی	گروه
$R-SO_3^-M^+$	سولفونات
$R-OSO_3^-M^+$	سولفات
$R-COO^-M^+$	کربوکسیلات
$R-OPO_3^-M^+$	فسفات
$R_xH_yN^+X^- (x=1-3, y=4-x)$	آمونیم
$R_4N^+X^-$	آمونیم ۴
$RN^+(CH_3)_2CH_2COO$	بتائین
$RN^+(CH_3)_2CH_2CH_2SO_3^-$	سولفوبتائین ها
$R-OCH_2CH_2(OCH_2CH_2)_nOH$	پلی اکسی اتیلن
سوکروز، سوربیتان، گلیسرول، اتیلن گلیکول و...	پلی ال ها
$R-NH-CHR-CO-NH-CHR-CO-...-CO_2H$	پلی پپتید
$R-(OCH_2CH[CH_2OH]CH_2)_n...OCH_2CH[CH_2OH]CH_2OH$	پلی گلیسیدیل



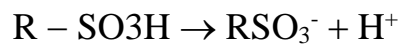
نمودار ۱-۱- ساختمان سورفکتانت ها (a) سورفکتانت مونومر قسمت دایره ای شکل نماینگر قسمت هیدروفیلیک متصل به پایانه هیدروکربنی می باشد. (b) میسل حلقوی. (c) میسل میله ای شکل. (d) میسل لایه ای. (e) میسل حفره ای (ویزیکولی).

### ۳-۱- طبقه بندی سورفکتانت ها

بار نیمه ها در سورفکتانت های مختلف متفاوت است و بر حسب اینکه بار نیمه فعال (گروه بزرگتر)، روی سطح چگونه باشد، و به عبارت دیگر، بسته به عوامل هیدروفیل و یا لیپوفیل، به ۴ دسته تقسیم می شوند:

هستند که در محلولهای مایع

۱- آنیون ها: این مواد، ترکیباتی مانند  $RSO_3H$  یونیزه می شوند و تولید یک آنیون سنگین می نمایند، بنابراین به دلیل بار منفی قسمت موثر خود، آنیونی نامیده می شوند.



محلول رقیق این مواد، الکترولیت های کلوئیدی را تشکیل می دهند که تا غلظت بحرانی، الکترولیت و در غلظت های بالاتر، کلوئید بوده و ایجاد ذرات ریزی را می نمایند که موجب انحلال اجسام غیرقابل حل می شوند. به دلیل ارزان قیمت بودن و سهولت ساخت آن، از رایج ترین سورفکتانت های مورد استفاده هستند و معمولاً دارای گروه های سولفات، سولفونات و کربوکسیلات می باشند .

۲- کاتیون ها: عامل اصلی فعالیت در آن ها کاتیون سنگین می باشد و در تضاد با آنیون ها هستند، گران می باشند و از خاصیت تمیزکنندگی کمتری نسبت در مقایسه با آنیون ها برخوردارند ولی، از نظر خاصیت ضد عفونی حائز اهمیت بسزائی می باشند.

۳- آمفوتری: در ساختمان مولکولی این مواد، بار مثبت و منفی تماماً وجود دارد و بر حسب pH محیط می توانند به سه صورت کاتیونی (در محلولهای اسیدی)، آنیونی (در محلول های قلیایی و غیر یونی هنگامی که دو بار یکدیگر را خنثی می کنند) عمل نمایند.

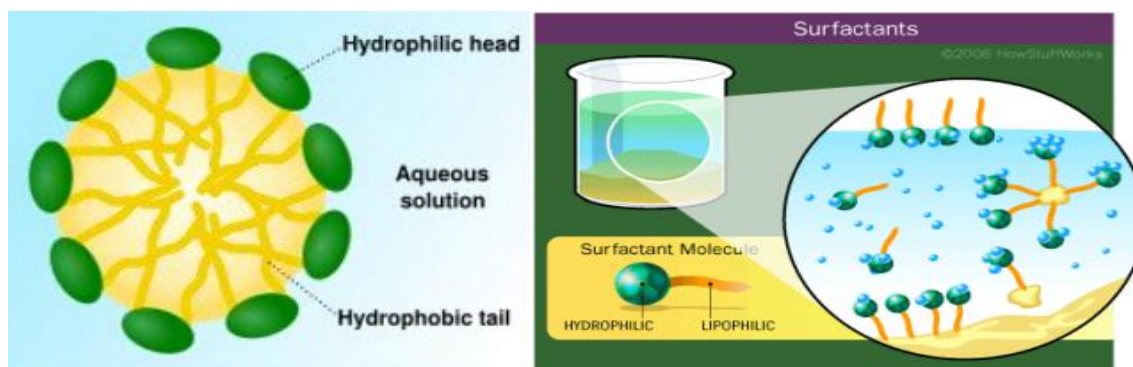
۴- غیر یونی: این مواد در آب محلول می باشند ولی قابل یونیزه نیستند، به دلیل اینکه دارای بار الکتریکی نمی باشند و خاصیت محلول بودن آنها در آب به دلیل اتصال عوامل هیدروکسی یا اتوکسی به یک زنجیره هیدروکربنی چرب می باشد. این مواد نسبت به سورفکتانت های آنیونی کمتر مورد استفاده واقع می شوند. (۳-۱).



#### ۴-۱- بیوسورفکتانت

استفاده از سورفاکتانت ها بسیار مورد تقاضاست، که در رابطه با این امر بیشتر سورفاکتانت های شیمیایی استفاده می شود. ویژگی های مختلف درباره آنها از قبیل خاصیت فیزیکوشیمیایی، نوع بار، حلالیت و خاصیت جذبی، اصلی ترین معیارهای انتخاب سورفاکتانت ها برای استفاده می باشد. ولی ترکیبات مذکور برای محیط ایجاد سمیت می کنند و قابل تجزیه نمی باشند، و احتمال دارد به شکل تجزیه نشده در محیط تجمع یابند یا مراحل تولید آنها و محصولات مشتق شده از آنها از نظر برای محیط زیست زیانبار باشد و از طرفی تولید آنها با هزینه بیشتری همراه باشد. اعمال قوانین حفاظت از محیط زیست و تلاش گروه های مختلف حامی محیط زیست و وجود سازمان های مختلف برای حفظ اکوسیستم، باعث گردیده که توجه به بیوسورفاکتانت های طبیعی، به عنوان آلترناتیو های مناسب به جای سورفاکتانت های شیمیایی، هذ چه بیشتر مورد توجه واقع شود.

بیوسورفاکتانت ها، به وسیله میکروارگانیسم های مختلف یعنی باکتری ها، مخمرها و قارچ ها، و در روی سطح سلول میکروب ها و یا از طریق خارج سلولی تولید می شوند. در ایجاد انتشار مواد هیدروفوب، نقش داشته و همچنین مساحت سطح را برای تکثیر و تزايد میکروارگانیسم ها افزایش می دهند. به عبارت دیگر، میکروارگانیسم های مذکور، به سطوح هیدروفیل اتصال می یابند و در دسترس قرار گرفتن حیاتی مواد نامحلول در آب را افزوده و معمولاً "فعالیت غیرمیکروبی بروز می دهند. نحوه عملکرد این ترکیبات را می توان در شکل ۱-۲ مشاهده نمود (۴-۵).



نمودار ۱-۲- نحوه عملکرد بیوسورفاکتانت ها

براساس ماهیت بیوشیمیایی، بیوسورفکتانت ها را می توان به ترکیبات کم مولکولی و بزرگ مولکولی طبقه بندی کرد. بیوسورفکتانت های با ترکیبات مولکولی کم ، شامل: لیپوپپتیدها (مانند سورفکتین و فنگایسین ها)، گلیکولپپیدها (به عنوان مثال رامنولپیدها و سوفورولپیدها) و فسفولپیدها (به عنوان مثال فسفاتیدیل اتانول آمین) می باشد. بیوسورفکتانت های بزرگ مولکولی ، مانند لیپوپروتئین ها ، لیپولی ساکارید (LPS) ، پروتئین ها و پلی ساکاریدها می باشند (۱-۲). بیشترین مواد فعال سطحی با منشاء میکروبی، گلیکولپپیدها می باشند و مهمترین در بین آنها، رامنولپیدها می باشند.

### ۵-۱- رامنولپید

رامنولپیدها به طور عمده از چهار همولوگ مختلف تشکیل شده اند که واجد یک یا دو مولکول رامنوز به عنوان ماده کربوهیدراتی و یک یا دو بقایای  $\beta$ -هیدروکسی دکانوات ایجاد کننده بخش لیپیدی است. (۶-۷).

برای اولین بار رامنولپیدها در اواخر سال ۱۹۶۰ تحت عنوان مواد حل کننده هیدروکربن ها مورد توجه واقع شدند. رامنولپیدها توسط گونه های مختلفی از میکروارگانیسم ها (به عنوان مثال قارچ ها، باکتری ها ، مخمرها) تولید می شوند و گونه اصلی تولید کننده رامنولپیدها سودوموناس آئروژینوزا از عوامل باکتریایی گرم منفی جدا شده از زیستگاه های مختلف (آب ، خاک یا حتی گیاهان) است. گونه های دیگر شامل: نوکاردیا ، اکتینوباکتر، انتروباکتر و بورخولدريا می باشد (۸). ژنهای اصلی که مسئول تنظیم بیوسنتز رامنولپیدها در باکتری هستند، شامل سیگنال های سنجش  $rhIB$ ،  $rhIA$ ،  $rhIR$  و  $quorum$  می باشد (۹).

استفاده از این مواد در پنج دهه گذشته به علت تخریب محیط زیست در مقایسه با سورفاکتانت های شیمیایی به مقدار زیادی مورد استفاده واقع شده است . برخی از ویژگی های مهم و شاخص رامنولپیدها که علاقه روز افزون به مصرف آنها در صنایع مختلف را موجب شده، فعالیت سطحی، سمیت پایین، زیست تخریب پذیری، مقاومت در دماهای بالا، pHهای مختلف و غلظت های

زیاد نمک، عملکرد انتخابی، امکان تولید از مواد خام ارزان قیمت و خصوصیات ضد میکروبی می باشد. امروزه کاربرد رامنولیپیدها در صنایع مختلف از جمله تهیه کمپوست مورد توجه خاصی قرار گرفته است (۱۰).

#### ۶-۱- کمپوست

یکی از مهمترین مشکلات زیست محیطی تولید روزافزون مواد زاید جامدآلی است. حجم زیاد و فسادپذیری از یک سو و کمبود امکان دفع و معضلات بهداشتی از سوی دیگر، موجب گردیده است که امروزه مدیریت مواد زائد جامدآلی به یکی از مهمترین مباحث علم مدیریت پسماند مبدل شود. در این میان یکی از بهترین روشهای از بین بردن این مواد زائد تولید کمپوست می باشد.

کمپوست از واژه‌ای لاتین *Compositus* و به معنای مخلوط یا مرکب اقتباس شده است. کمپوست و بازیافت بقایای حیوانات از هزاران سال پیش شناخته شده بوده است؛ و در اروپا دانشمندانی چون هومر و ارسطو به آن پرداخته‌اند (۱۱).

پوسال یا کمپوست به پسماندهای آلی تجزیه شده و نسبتاً پایدار به دست آمده از فرایند پوسش هست و پوسش یا کمپوست به عمل پوساندن و تجزیه بقایای حیوانی، گیاهی، یا زباله‌های شهری که همچنین لجن فاضلاب است، اطلاق می شود و تحت شرایط ویژه و با استفاده از روش‌های مختلف صورت می گیرد. این روند احتمالاً "کهن‌ترین روش بازیافت می باشد. ترکیبات آلی که در توده مصرفی برای کمپوست از ضایعات کشاورزی وجود دارد، مواد غذایی و زباله‌هایی می باشد که به توسط تجزیه هوازی و بی‌هوازی به خاک سیاه و سفید غنی تبدیل شده است و تحت عنوان کود در کشاورزی مورد مصرف واقع می شود. فرایند مربوط به کمپوست روند بسیار ساده ای است که به وسیله افراد با تجربه در خانه‌های خود، کشاورزان در زمین‌های شان، و به شکل صنعتی نیز انجام می پذیرد. کمپوست نتیجه فعالیت بیولوژیکی میکروارگانیسم‌های مختلفی است که قادر به شکستن مولکول‌های درشت مواد آلی می‌باشند.

این کود که از پسماندهای کشاورزی، خانگی و خوراکی تولید می‌شود یکی از عالی‌ترین کودها برای مصارف کشاورزی به‌شمار می‌رود و تولیدکنندگان گل و گیاه نیز امکان بهره‌گیری از این کود را دارند. منیزیوم و فسفات موجود در این کود سبب آبرفتی شدن خاک‌های کشاورزی و جذب سریع تر مواد مغذی درون خاک می‌شود. کمپوست، خاک بسیار غنی و مورد استفاده است که در مکان‌هایی همچون در باغ‌ها، محوطه سازی، باغداری، و کشاورزی به عنوان کود بکار می‌روند. کمپوست به عنوان یک آفت کش طبیعی برای خاک نیز می‌باشد. در خاک پوسال اکوسیستم‌ها برای کنترل فرسایش، زمین و جریان بهسازی خاک، ساخت و ساز تالاب، و به عنوان پوشش دفن زباله بسیار مفید است. استفاده از کمپوست در کشاورزی به افزایش ماده آلی، عناصر معدنی، بهبود ساختمان خاک و عملکرد دانه منتهی می‌شود (۸).

## ۷-۱- انواع کمپوست

برای تهیه کمپوست، برحسب مواد مصرفی و نحوه تولید، انواع مختلف کمپوست تهیه می‌شود:

۱- کمپوست حاصل از پسماند تر شهری (بقایای مواد غذایی و سبزیجات)

۲- کمپوست سبز

تهیه شده از پسماندهای باغبانی، پسماندهای حاصل از هرس گیاهان در فضای سبز و پارک‌ها که طی فرایند تجزیه و تخمیر توسط میکروارگانیسم‌ها، تبدیل به کمپوست می‌شوند.

۳- ورمی کمپوست: ورمی کمپوست متشکل از ورمی (کرم خاکی) و کمپوست (کود آلی) به معنای نوعی کود آلی است که از فعالیت کرم خاکی حاصل می‌گردد.

۴- کمپوست قارچ خوراکی: کمپوست جهت بستر کشت و تأمین‌کننده مواد غذایی قارچ دکمه ای

## ۸-۱- روش های پوشش

پوشش به شکل هوازی و بی‌هوازی انجام می‌گیرد. عمل کمپوست روباز بدون پوشاندن توده مواد آلی انجام می‌گیرد؛ و کمپوست بی‌هوازی Anaerobic به شکل سربسته انجام می‌گیرد؛ و فرایندی است که عمل کمپوست و تجزیه میکربی مواد آلی مختلط، در غیاب اکسیژن انجام می‌گیرد. باکتری‌های تخمیرکننده، تولیدکننده H<sub>2</sub> (کاهنده پروتون) و متان‌زا سه گروه عمده میکرو ارگانیسم‌های فعال در این فرایند هستند. تجزیه مواد آلی به وسیله دسته‌ای از باکتری‌هایی که تولید دی‌اکسید کربن و متان می‌کنند (باکتری‌های استوژنیک و متانوژنیک) اتفاق می‌افتد این باکتری‌ها در رنج دمای بهینه ۳۵-۳۹ درجه سانتی‌گراد (مزوفیلیک) ۵۵-۶۰ درجه سانتی‌گراد عمل هضم را انجام می‌دهند. زباله‌ها توسط آنزیم‌ها مشابه آنچه که در معده انجام می‌گیرد مواد آلی را به قندها و آمینو اسیدها و مواد حیاتی مورد نیاز نباتات تبدیل می‌کنند (۱۱-۱۲).

### ۱-۸-۱- روش تراکتوری

در این روش زباله میکس شده در ردیف‌های موازی انباشت می‌شود و تراکتوری که دستگاه میکس در کنار آن نصب شده از میان ردیف‌ها حرکت کرده و عمل میکس را انجام می‌دهد، سپس تراکتور دیگری با دستگاه خردکن به همان شیوه عمل می‌نماید (۱۱-۱۲).

### ۲-۸-۱- روش دیوی پشته‌ای

در این روش زباله میکس شده بعد از انباشت پشته‌ای در اثر فشار طبقات بالاتر آرام آرام و به مرور زمان تجزیه می‌گردد (۱۱-۱۳).

### ۹-۱- شرایط تولید کمپوست

در کمپوست از مخلوط موادی چون کود حیوانی، خاک، مواد زائد گیاهی مانند کاه و برگ و شاخه‌های بسیار خرد شده و زائدات آشپزخانه که شامل پوست میوه‌ها، میوه‌های غیرقابل مصرف، زائدات سبزیجات، ته مانده‌های خوراکی، پوست تخم مرغ ریز شده، خاک اره استفاده می‌شود؛ ولی باید از موادی که

حشرات موذی را به خود جذب می‌کند و همچنین شاخ و برگ‌های درختان سوزنی برگ (مخروطیان) به دلیل اسیدی کردن پی‌اچ توده کمتر استفاده شود (۱۱-۱۳).

### رطوبت

رطوبت مطلوب پوشش بین ۴۰ تا ۶۰ درصد می‌باشد. رطوبت کمتر و بیشتر فرایند کمپوست را مختل می‌نماید (۱۲-۱۴).

### جریان هوا

بستگی به نوع کمپوست دارد.

### دما

دمای مناسب برای فرایند کمپوست بستگی به نوع کمپوست دارد.

### پی‌اچ کمپوست

پی‌اچ کمپوست باید بین ۷ تا ۹ باشد. در مراحل اولیه پی‌اچ کمپوست تا ۶,۵ کاهش می‌یابد؛ ولی در مراحل بعدی افزایش می‌یابد (۱۲-۱۴).

### نسبت کربن به نیتروژن

نسبت کربن به نیتروژن (C/N) به نسبت ۳۰ کربن به ۱ نیتروژن بوده و نباید نسبت کربن بیشتر از این افزایش یابد این امر برای میکروارگانیسم‌ها و در نتیجه فرایند تجزیه بسیار حیاتی است. مواد قهوه‌ای و خشک مانند کاه و خاک اره دارای کربن بیشتری بوده و عمل تجزیه را طولانی می‌کنند و در نتیجه باید به نسبت زیاد در کمپوست استفاده نشود. از آن سو مواد سبز مانند برگ‌ها، چمن زده شده، ته مانده‌های خوراکی، سبزیجات و پوست میوه‌ها نیتروژن بیشتری دارند که استفاده از آنها برای تسریع کمپوست بسیار ضروری است (۱۲-۱۵).

## ۱۰-۱- نقش میکروارگانیسم‌ها در توده کمپوست

میکروارگانیسم‌ها نقشی حیاتی در تجزیه مواد آلی موجود در توده کمپوست بر عهده دارند. مواد ارگانیک موجود در کمپوست در حقیقت مواد غذایی میکروارگانیسم‌هایی می‌شوند که نقش این میکروارگانیسم‌ها نگره داشتن خاک در وضعیتی سالم و متعادل است. در نتیجه تغذیه میکروارگانیسم‌ها از مواد آلی مورد نیاز گیاه همچون نیتروژن، پتاسیم و فسفر تولید می‌شوند و در نتیجه تنها تعداد اندکی از مواد مغذی می‌ماند که باید به خاک افزوده شود. با مخلوط مناسب از آب، اکسیژن، کربن و نیتروژن، میکروارگانیسم‌ها قادر به شکستن مواد آلی تولید کمپوست می‌شوند. در واقع فرایند کمپوست کاملاً وابسته به میکروارگانیسم‌ها و نقش آن‌ها در شکستن مواد آلی است. انواع بسیاری از میکروارگانیسم‌های موجود در کمپوست فعالند که متداول‌ترین آن‌ها گونه‌های زیرند:

باکتری‌ها: تعداد زیادی از میکروارگانیسم‌های موجود در کمپوست را باکتری‌ها تشکیل می‌دهند. بسته به مرحله کمپوست، باکتری‌ها مزوفیل یا گرمادوست ممکن است غالب باشند.

اکتینوباکترها: برای شکستن محصولات کاغذی مانند روزنامه، پوست درخت، و غیره

قارچ‌ها: با عمل تخمیر به شکستن موادی که باکتری‌ها نمی‌توانند، به خصوص لیگنین در مواد چوبی کمک می‌کند.

پروتوزوا: به قارچ‌ها کمک می‌کنند.

چرخان‌تباران: کمک به کنترل جمعیت باکتری‌ها و پروتوزواها

عدم وجود یک جامعه میکروارگانیسم سالم دلیل اصلی آهسته پیش رفتن برخی کمپوست‌ها در مزارع یا محیط زیست است. از اینرو استفاده و تزریق باکتری‌ها به شکل چشمگیر این فرایند را تسریع نموده و بوهای نامطلوب را سرکوب می‌نماید. فعالیت این میکروارگانیسم‌ها سبب تولید ترکیبات هوموسی شده که

به راحتی توسط گیاه جذب می‌شود. علاوه بر میکروارگانسیم‌ها کرم‌های خاکی نیز با خوردن مواد آلی درون کمپوست و حفر تونل و هوارسانی کمک شایانی به فرایند کمپوست می‌کنند (۱۶-۱۴).

از آنجایی که کمپوست عمدتاً از بقایا و زایدات جامد شهری بدست می‌آید همیشه امکان حضور مواد زائد با منشاء جانوری و به تبع آن میکروارگانسیم‌های بیماری‌زا در ماده اولیه کمپوست وجود دارد. تخریب عوامل بیماری‌زا پارامتر مهم در طراحی فرآیند کمپوست‌سازی می‌باشد، از این رو، تلاش‌های بسیاری در زمینه تولید کمپوست با مواد سازگار با محیط زیست و کمترین آلودگی به باکتری‌های پاتوژن صورت گرفته است. بنابراین، به منظور کوتاه کردن زمان تولید کمپوست، بهبود کارایی، کیفیت کمپوست و از بین بردن باکتری‌های پاتوژن بسیاری از محققان سعی می‌کنند مقداری رامنولیپیدها را برای ایجاد کمپوست اضافه کنند (۱۷).

#### ۱۱-۱- مکانیسم‌های عمل رامنولیپیدها در کمپوست

مکانیسم‌های عمل رامنولیپیدها ممکن است به شرح زیر باشد: اولاً، رامنولیپیدها می‌توانند شرایط فیزیکی و شیمیایی کمپوست‌سازی در محیط مانند دما، رطوبت، اکسیژن، تخلخل، pH و غیره را بهبود بخشند که باعث بهبود شرایط رشد میکروارگانسیم‌ها می‌شود. از سوی دیگر، میکروارگانسیم‌ها آنزیم‌های خارج سلولی بیشتری را ترشح می‌کنند، که برای تهیه کمپوست سودمند هستند. Gabhane و همکاران مشاهده کردند که افزودن رامنولیپیدها به کمپوست زباله‌های آلی، گروه آبگریزی رامنولیپیدها را به سطح ماده آلی متصل می‌کند در حالی که گروه آبدوست در آب حل می‌شوند و این باعث تسریع در تجزیه بیولوژیکی مواد آلی می‌شود (۱۸-۱۷).

فو و همکاران گزارش دادند که رامنولیپیدها باعث تسریع در جذب ماده آلی توسط میکروارگانسیم‌ها در کمپوست می‌شود. بنابراین، افزودن رامنولیپیدها در کمپوست ممکن است یک اقدام مؤثر در تقویت فعالیت میکروارگانسیم‌ها و آنزیم‌های خارج سلول باشد و به طور قابل توجهی کارایی و کیفیت کمپوست را بهبود بخشد (۱۹). رامنولیپیدها می‌توانند از طریق واکنش با در پروتئین‌های



میکروبی باعث تغییر ساختار آنزیمی و در نتیجه، تغییر فعالیت آنها شوند. این ترکیبات روی برخی از میکروارگانیسم ها اثر کشنده دارند؛ به طوری که می توان از آنها به عنوان عوامل ضد میکروبی جهت از بین بردن میکروبهای بیماریزای انسانی، حیوانی و گیاهی استفاده کرد از طرف دیگر با تخریب بیوفیلم ها و جلوگیری از تشکیل آنها بر روی سطوح از آلودگی میکروب های بیماریزایی چون *Staphylococcus aureus* ، *Salmonella typhi* ، *Listeria monocytogenes* و *Escherichia coli* جلوگیری می شود. همچنین رامنولیپیدها می توانند به طور مؤثر رشد و فعالیت میکروارگانیسم هایی مانند قارچ ها را مهار کنند (۲۰-۲۱).

رامنولیپیدها بیشتر بر حمل و نقل مواد ، رشد و سوخت و ساز میکروارگانیسم تأثیر می گذارد. لیو و همکاران مشاهده کردند وقتی رامنولیپیدها روی سطح سلول جذب می شود باعث تغییر در گروه های عملکردی سطح سلول (افزایش گروه عملکردی آبگریز) و غلظت عناصر (کاهش غلظت C ، P ، S ، K ، افزایش غلظت O و Cl) می شوند (۲۲).

در همین حال ، جذب سطحی سورفکتانت ها روی سطح سلول نیز ممکن است باعث تغییر ساختار غشایی شود ، که باعث تغییر در عملکردهای اصلی غشاها (مانند انتقال ماده ، تولید انرژی و نفوذپذیری غشاء) و خصوصیات سطح سلول می شود (۲۳). به عنوان مثال ، مشاهده شد که رامنولیپیدها باعث افزایش نفوذپذیری غشای *باسیلوس سوبتیلیس* و *سودوموناس آئروژینوزا* و در نتیجه نشت متابولیت می شوند، زیرا رامنولیپیدها روی سطح سلول پوشیده شده و منجر به تغییر خصوصیات سطح سلول می شوند (۲۴). همچنین گزارش شده است که سورفاکتانت ها می توانند باعث افزایش لیپیدهای غشایی شده و باعث کاهش سیالیت غشایی گونه های مختلف *Arthrobacter* شوند. اثرات رامنولیپیدها بر خواص سطح سلول بستگی به غلظت و انواع رامنولیپیدها ، گونه های میکروارگانیسم ها و شرایط محیطی و غیره دارد (۲۵).

اگرچه در هنگام کمپوست سازی مزایای بسیاری از رامنولیپیدها وجود دارد ، اما کاربرد رامنولیپیدها در کمپوست با مطالعات محدود است، بنابراین برای کاربرد بهتر باید آزمایش های بیشتری انجام شود. اعتقاد بر این است که رامنولیپیدها نقش مهم و بیشتری را در کمپوست بازی می کنند. لذا مطالعه حاضر با هدف اثر رامنولیپیدها بر ویژگی بیماری زایی میکروارگانیسم های موجود در کمپوست های آلی انجام گردید.

## ۱۲-۱- فرضیات و سوالات تحقیق

۱. رامنولیپیدها باعث کاهش بیماری زایی میکروارگانیسم های موجود در کمپوست های آلی می شود
۲. رامنولیپیدها در از بین بردن میکروارگانیسم های موجود در کمپوست های آلی موثر است.
۳. رامنولیپیدها در بهبود کارآیی و کیفیت بالا محصولات کمپوست موثر است.

## ۱۳-۱- دلایل توجیهی و ضرورت انجام طرح

از آنجایی که کمپوست عمدتاً از بقایا و زایدات جامد شهری بدست می آید همیشه امکان حضور مواد زائد با منشاء جانوری و به تبع آن میکروارگانیسم های بیماری زا در ماده اولیه کمپوست وجود دارد. تخریب عوامل بیماری زا پارامتر مهم در طراحی فرآیند کمپوست سازی می باشد. از این رو ، به منظور بهبود کیفیت کمپوست و از بین بردن باکتری های پاتوژن بسیاری از محققان سعی می کنند مقداری رامنولیپیدها را برای ایجاد کمپوست اضافه کنند . رامنولیپیدها می توانند از طریق واکنش با در پروتئین های میکروبی باعث تغییر ساختار آنزیمی و در نتیجه، تغییر فعالیت آنها شوند. این ترکیبات روی برخی از میکروارگانیسم ها اثر کشنده دارند؛ به طوری که می توان از آنها به عنوان عوامل ضد میکروبی جهت از بین بردن میکروبهای بیماریزای انسانی دارد. لذا استفاده رامنولیپیدها ها در تهیه کمپوست می تواند راهکار جدیدی برای کنترل زیستی باکتری های پاتوژن موجود در کمپوست و همچنین تهیه کمپوست با کیفیت بالاتر محسوب گردد.

## **Effect of rhamnolipids on pathogenicity characteristics of microorganisms in organic compost**

Ciamak Ghazaei

### **Abstract:**

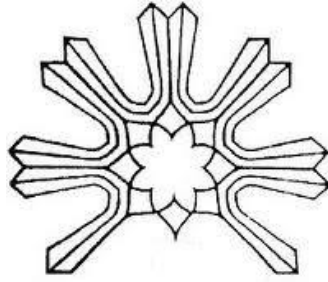
**Background and aim:** Compost the decomposed organic wastes are the result of the decay process, that resulting the activity of microorganisms in the mass of organic matter, they are decomposed and become relatively stable. Due to the fact that compost is mainly obtained from waste and urban waste, therefore, there is a possibility of pathogenic microbes in the raw material of compost. Destruction of pathogens is an important parameter in the design of the composting process, so the present study was conducted to investigate the effect of Rhamnolipids on the pathogenicity of microorganisms in organic composts.

**Material and Method:** In order to separate pathogenic bacterial strains from compost material, sampling of compost during production process was done in Ardabil compost production plant and separation was done by serial dilution method. Rhamnolipid antimicrobial activity was done based on disk diffusion agar using Kirby Bauer method. The lowest inhibition concentration (MIC) and the lowest bactericidal concentration (MBC) were also investigated.

**Results:** As a result of isolating and identifying bacterial strains from compost, 8 strains were isolated, which included: *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus licheniformis*, *Bordetella petri*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes*. The results obtained by disk diffusion method showed that the highest inhibitory effect of Rhamnolipid belonged to *Bacillus stearothermophilus* at 31.5 mm and the lowest inhibition of Rhamnolipid belonged to *Bordetella petri* at 18 mm. Based on the results of Rhamnolipid's minimal inhibitory concentration method, it showed the greatest effect on *Bordetella petri*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus licheniformis* (50 mg/ml) bacteria and had the same effect on other isolates. Rhamnolipid showed the least effect on *Enterobacter aerogenes* (250 mg/ml).

**Conclusion:** Studies show that the use of rhamnolipids as antimicrobial agents in the direction of removing human pathogenic microbes in compost as an important and practical solution is logical and acceptable.

**Keywords:** Rhamnolipid, Compost, Microorganism, Microbe



**University of Mohagheh Ardabili**

*Final Report of Research Project*

**Effect of rhamnolipids on pathogenicity  
characteristics of microorganisms  
in organic compost**

**By:**

**Ciamak Ghazaei (Ph.D)**

*Department of Animal Production Technology  
Faculty of Agriculture and Natural Resources, Moghan*

**This Research Project Has Been Financially Supported by the  
Office of Vice Chancellor for Research**

**2020**