دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
نشریه پژوهش‌های حفاظت آب و خاک
جلد بیست و سوم، شماره ششم، ۱۳۹۵
http://jwsc.gau.ac.ir

تأثیر غنی‌سازی و تلقیح میکروبی بر بهبود خصوصیات کیفی ویناس چغندرقند برای استفاده در اراضی کشاورزی

*اکبر حسنی[1] و مهدی نورزاده حداد[2]
[1]استادیار گروه خاک‌شناسی، دانشگاه زنجان، [2]استادیار گروه کشاورزی، دانشگاه پیام‌نور
تاریخ دریافت: ۹۵/٤/۲۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۹

چکیده

سابقه و هدف: ویناس پساب صنعت الکل‌سازی بوده و مایعی با رنگ قهوه‌ای تیره می‌باشد که محتوی ترکیب‌های آلی و معدنی متنوعی است و ورود آن به محیط زیست ممکن است مشکلاتی به همراه داشته باشد. طی سال‌های اخیر نگاه متفاوت به محصولات جانبی و استفاده از آن‌ها در سایر زمینه‌های مختلف مورد توجه قرار گرفته است. کاربرد این پسمانده‌ها در زمین‌های کشاورزی به‌عنوان بخشی از برنامه حاصلخیز نمودن خاک یکی از این موارد می‌باشد. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر تیمار ویناس با نوعی کنسرسیوم متشکل از سه گونه باکتری مختلف بر نیاز اکسیژن شیمیایی (COD)، نیاز اکسیژن زیستی (BOD)، فنل و شدت رنگ ویناس خام و همچنین تأثیر ویناس خام و تیمارشده بر جمعیت قارچ‌ها و باکتری‌های خاک می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ویناس مورد مطالعه از کارخانه شرکت الکل‌سازی تقطیر خراسان تهیه شد. در این پژوهش، تجزیه زیستی با استفاده از نوعی کنسرسیوم متشکل از سه باکتری *Pseudomonas aeruginosa*، *Stenotrophomonas maltophila* و *Proteus mirabilis* انجام شد. در این مطالعه، تأثیر دما، غلظت آلوده‌سازی، وجود نمک‌های معدنی، غلظت‌های متفاوت اسید هیومیک و منابع متفاوت کربن و نیتروژن مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی تأثیر کاربرد ویناس خام و تیمارشده بر جمعیت میکروارگانیسم‌های خاک، جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌های خاک به‌عنوان شاخص جمعیت میکروارگانیسم‌ها شمارش شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که این کنسرسیوم با ایجاد شرایط بهینه در دمای ۳۸ درجه سلسیوس و غلظت آلوده‌سازی ۱۰ درصد حجمی- حجمی طی مدت ۵ روز قادر به کاهش ۵۷/۱ و ۷۵/۷ درصدی به ترتیب در مقدار COD و BOD بود. مقدار رنگ و فنل نیز به‌ترتیب ۵۹/۲ و ٦٦/٦ درصد کاهش یافت. اضافه نمودن گلوکز به‌عنوان منبع ساده کربن باعث افزایش تأثیرگذاری کنسرسیوم بر ویناس شد. حضور اسید هیومیک به‌عنوان منبع پیچیده کربن و همچنین یک عامل محرک رشد باکتری‌ها بر عملکرد کنسرسیوم بر ویناس تأثیر مثبت داشت. بیش‌ترین کاهش رنگ، COD و فنل در غلظت ٤۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید هیومیک دیده شد. با اضافه کردن ویناس خام و تیمارشده به خاک پس از گذشت ۳۳ روز، جمعیت باکتری‌ها تحت‌تأثیر ویناس خام و تیمارشده به‌ترتیب ۲۷/٦ و ۱۷/۰ درصد افزایش یافت. این روند به‌طور تقریباً مشابه برای قارچ‌ها نیز تکرار شد.

* مسئول مکاتبه: akbar.hassani@znu.ac.ir

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که استفاده از این کنسرسیوم با ایجاد شرایط بهینه قادر به کاهش درصد بالایی از رنگ، COD و مواد فنولیک می‌باشد و استفاده از این کنسرسیوم برای تجزیه زیستی ویناس تولید شده در صنعت الکل‌سازی، قبل از رهاسازی آن‌ها به محیط زیست می‌تواند تأثیر منفی بالقوه آن‌ها را کاهش دهد. همچنین اضافه کردن ویناس خام و تیمارشده به خاک باعث افزایش جمعیت قارچ‌ها و باکتری‌ها می‌شود که تأثیرگذاری ویناس خام در این مورد بیش‌تر است.

واژه‌های کلیدی: ویناس، کنسرسیوم باکتری، تصفیه زیستی، اسید هیومیک، نیاز اکسیژن زیستی

مقدمه

در بسیاری از فرآیندهای تولیدی در صنعت و کشاورزی، برخی محصولات جانبی علاوه بر محصول اصلی تولید می‌شوند. در سال‌های گذشته، این محصولات جانبی به‌عنوان ضایعات، دور ریخته شده و منجر به ایجاد برخی مشکلات زیست‌محیطی می‌شد. طی سال‌های اخیر نگاه متفاوت به محصولات جانبی و استفاده از آن‌ها در سایر زمینه‌های مختلف مورد توجه قرار گرفته است. کاربرد این ضایعات در زمین‌های کشاورزی به‌عنوان بخشی از برنامه حاصلخیز نمودن خاک یکی از این موارد می‌باشد (٤٥).

واژه ویناس به پساب صنایع الکل‌سازی گفته می‌شود که پس از تقطیر الکل بر جای می‌ماند. ویناس ماده‌ای با رنگ قهوه‌ای تیره و بوی نامطبوع می‌باشد که محتوی ترکیبات آلی متنوعی مانند اسید استیک، اسید لاکتیک، گلیسرول، انواع فنول‌ها و پلی‌فنول‌ها، ملانوئیدین‌ها و همچنین ترکیبات معدنی هم‌چون نمک‌های سولفاتی و فسفاتی، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، فسفر و نیتروژن بوده و به‌طورکلی ترکیبات آن به ماده استخراج شده از آن وابستگی زیادی دارد (٣٤). مقدار نیاز اکسیژن زیستی (BOD) در این ماده بالا بوده و با وارد شدن به محیط‌های آبی مانند رودخانه‌ها و دریاچه‌ها در اثر تجزیه میکروارگانیسم‌ها، اکسیژن محلول در آب را کاهش داده و موجب مرگ آبزیان می‌شود. استفاده از آن در خاک نیز ممکن است مشکلاتی هم‌چون افزایش شوری و تخریب ساختمان خاک را ایجاد کند (٤٠). وجود ترکیبات فنولیک و پلی‌فنولیک نیز ممکن است روی جوانه‌زنی بذور تأثیر منفی داشته باشد (١٤).

ایجاد برخی تغییرات در ویناس برای کاهش تأثیرات منفی آن در محیط زیست یکی از روش‌های رایج در صنعت می‌باشد. در گذشته پژوهش‌های متعددی برای کاهش ویژگی‌های منفی ویناس توسط پژوهشگران انجام شده است که می‌توان به استفاده از روش‌های شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی اشاره نمود. در روش‌های شیمیایی، استفاده از اکسیدکننده‌های قوی مانند محلول فنتون (مخلوط هیدروژن پراکسید و سولفات آهن) (٦)، استفاده از گاز O_3 (٥) و همچنین از روش‌های فیزیکی- شیمیایی نیز استفاده از الکترولیز (٤٣)، الکترودیالیز (١٢)، اولترافیلتراسیون و اسمز معکوس (٢٩) توسط پژوهشگران گزارش شده است.

در روش‌های بیولوژیکی استفاده از انواع میکروارگانیسم‌ها برای تجزیه ترکیبات مضر و تبدیل آن‌ها به ترکیباتی با مشکلات زیست‌محیطی کم‌تر، رایج است. تخمیر بی‌هوازی و تولید گاز از ویناس (٢، ٣٤)، تجزیه هوازی با باکتری‌ها (١١)، قارچ‌های تجزیه‌کننده لیگنین (٢١) و سایر قارچ‌ها (١٥) از روش‌های رایج در تیمار بیولوژیکی ویناس می‌باشد. استفاده از روش‌های بیولوژیکی با وجود هزینه بیش‌تر، نسبت به روش‌های شیمیایی مشکلات زیست‌محیطی کم‌تری دارد.

در کشور ایران بیش از ده کارخانه بزرگ تولید الکل وجود دارد و به‌طور متوسط برای تولید هر لیتر الکل حدود ۱۲ لیتر ویناس تولید می‌شود که سالانه حجم زیادی از این ماده به‌عنوان پساب و محصول جانبی در کارخانجات الکل‌سازی ایجاد می‌گردد. از طرف دیگر این ماده محتوی مقدار قابل‌توجهی مواد آلی، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و مقادیر متوسط نیتروژن و فسفر می‌باشد. یکی از راه‌حل‌های موجود برای مدیریت این حجم از این ماده، استفاده از آن در زمین‌های کشاورزی به‌عنوان افزایش‌دهنده ماده آلی خاک و نیز تامین بخشی از نیاز غذایی گیاهان زراعی می‌باشد، ولی با وجود برخی ویژگی‌های منفی ذکر شده، کاربرد ویناس تولیدشده به شکل خام در مزارع و یا رها نمودن آن در محیط زیست ممکن است مشکلاتی ایجاد کند. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر تیمار ویناس با نوعی کنسرسیوم متشکل از سه گونه باکتری مختلف و تأثیر آن بر نیاز اکسیژن شیمیایی (COD)، نیاز اکسیژن زیستی، مقدار فنل و رنگ ویناس خام و همچنین بررسی تأثیر استفاده از ویناس خام و تیمارشده بر جوامع میکروبی خاک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ویناس مورد مطالعه از شرکت الکل‌سازی تقطیر خراسان تهیه شد. در این شرکت از ملاس چغندرقند برای تهیه الکل استفاده می‌شود و ویناس به‌عنوان محصول جانبی تولید می‌شود. نمونه‌ها از یک مخزن محتوی ویناس داغ (٦٥ درجه سلسیوس) برداشت و پس از خنک شدن در یخچال نگهداری شدند.

قبل از انجام آزمایش ابتدا ویناس مورد استفاده مورد تجزیه شیمیایی قرار گرفت. برای اندازه‌گیری COD از روش اسپکتروفتومتری در طول موج ٦٢٠ نانومتر استفاده شد (۹). مقدار نیتروژن و کربن کل با دستگاه اتوآنالیزر اندازه‌گیری شد. فسفر به روش رنگ‌سنجی با کمپلکس فسفومولیبدات وانادات و سایر عناصر غذایی با دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شدند. مقدار فنل کل نیز به روش فولین (۲۰) اندازه‌گیری شد.

در این پژوهش، تجزیه بیولوژیکی با استفاده از نوعی کنسرسیوم متشکل از سه باکتری *Pseudomonas aeruginosa*، *Stenotrophomonas maltophila* و *Proteus mirabilis* دریافت شده از شرکت Hans هندوستان انجام شد. ارگانیسم‌های موجود در این کنسرسیوم از خاک‌های آلوده به ویناس در نزدیکی کارخانه شکر و الکل در هندوستان جداسازی و تکثیر شده است (۲۸). برای بررسی تأثیر کنسرسیوم بر ویناس، از محلول‌های رقیق‌شده (یک به ۱۲) استفاده شد. قبل ازآالوده‌سازی، مقدار pH محلول‌ها با استفاده از محلول هیدروکسید پتاسیم ۰/۱ مولار به ۷ رسانده شد. برای بررسی غلظت بهینه آلوده‌سازی، مقادیر ۱، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد حجمی- حجمی از کنسرسیوم (غلظت $1/1\times10^{7}$ CFU/ml) تهیه شده و با حجم نهایی ۵۰۰ میلی‌لیتر ویناس مورد استفاده قرار گرفت. بررسی تأثیر کنسرسیوم بر ویژگی‌های ویناس در یک آزمایش هفت روزه انجام شد و هر روز از محلول‌ها نمونه‌گیری شد. در هر نمونه مقدار COD، فنل و همچین کاهش رنگ مورد بررسی قرار گرفت. مقدار کاهش رنگ به روش اسپکتروفتومتری در طول موج ٤٢٠ نانومتر انجام شد (۲۵).

برای ایجاد شرایط بهینه غذایی، ویناس خام با نمک‌های پتاسیم فسفات و منیزیم سولفات، گلوکز به‌عنوان منبع ساده کربن و اسید هیومیک به‌عنوان منبع

پیچیده کربن و احتمالاً نوعی محرک رشد و نیترات آمونیم به‌عنوان منبع نیتروژن، غنی شد. در این حالت هفت تیمار ۱- ویناس خام، ۲- ویناس خام + نمک‌های معدنی (۰/۱ درصد پتاسیم فسفات، ۰/۰۵ درصد منیزیم سولفات)، ۳- ویناس خام + گلوکز (۰/۵ درصد)، ٤- ویناس خام + هیومیک (۳۰ میلی‌گرم بر لیتر)، ٥- ویناس خام + نیترات آمونیم (۰/۰۵ درصد)، ٦- ویناس خام + گلوکز + هیومیک اسید ۷- ویناس خام + گلوکز + اسید هیومیک + نمک معدنی + نیترات آمونیم در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. همچنین برای بررسی تأثیر دما بر عملکرد کنسرسیوم، آزمایش در دو دمای ۲۰ و ۳۸ درجه سلیسوس انجام شد. همچنین مقادیر متفاوتی از اسید هیومیک (دامنه غلظتی ۷۰-۰ میلی‌گرم بر لیتر) برای تعیین بهترین غلظت اسید هیومیک بر تأثیرگذاری کنسرسیوم استفاده شد. پس از تعیین شرایط بهینه، یک نمونه ویناس تیمارشده با کنسرسیوم در غلظت و دمای بهینه مورد آنالیز کامل شیمیایی قرار گرفت.

برای بررسی تأثیر کاربرد ویناس خام و تیمارشده بر جمعیت میکروارگانیسم‌های خاک، جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌های خاک به‌عنوان شاخص جمعیت میکروارگانیسم‌ها شمارش شد. به یک نمونه خاک ۲۰۰ گرمی مقدار ۵۰ میلی‌لیتر ویناس خام رقیق شده (یک دوازدهم) و تیمار شده با کنسرسیوم افزوده شد و همراه با یک نمونه شاهد (افزودن آب) به‌مدت ۹۹ روز در دمای ۲ ±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت ۲۵ درصد جرمی انکوباسیون شدند. حفظ رطوبت با استفاده از محلول ویناس انجام شد به‌نحوی‌که هر ده روز یک‌بار مقدار ۵۰ میلی‌لیتر ویناس رقیق شده ۱ به ۲۵۰ به نمونه‌ها اضافه می‌شد. نمونه‌برداری در سه مرحله زمانی با فاصله ۳۳ روز انجام شد. تعداد جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌ها در نمونه‌ها با استفاده از کشت پلیت و شمارش مستقیم میکروب‌ها به روش کِلی و همکاران (۱۹۹۹) انجام شد (۲۲). برای شمارش کل باکتری‌ها ۱۰ گرم خاک به ۹۰ میلی‌لیتر آب استریل افزوده شد. سوسپانسیون به‌مدت ۲۰ دقیقه روی شیکر (۱۲۰ دور در دقیقه) تکان داده شد. این محلول به مقدار 10^{-6} مرتبه در آب استریل رقیق شد و از هر رقت ۰/۱ میلی‌لیتر در ۳ تکرار روی محیط کشت نوترینت آگار با غلظت ١٦ گرم در لیتر انجام شد. برای جلوگیری از رشد قارچ‌ها، ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیستاین به محیط کشت باکتری اضافه شد. پس از ٢٤ ساعت انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سلسیوس شمارش کلونی‌ها انجام شد (٤). برای شمارش کل قارچ‌ها نیز از همان سوسپانسیون 10^{-1} آماده شده، رقت 10^{-5} تهیه و از آن مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر در ۳ تکرار روی محیط کشت مارتین آگار شامل رزبنگال و استرپتومایسین اضافه شد (٤).

نتایج و بحث

نتایج آنالیز شیمیایی ویناس خام در جدول ۱ دیده می‌شود. مقدار BOD نسبتاً بالاست و مقدار COD نیز زیاد است. نسبت BOD/COD برابر با ۰/۳ می‌باشد که نشان می‌دهد تجزیه‌پذیری این ترکیب بالا می‌باشد (۱). نتایج آنالیز عنصری نشان‌دهنده غنی‌بودن نسبی ویناس از پتاسیم، کلسیم و منیزیم می‌باشد. اگرچه غلظت سدیم و کلر نیز در آن نسبتاً زیاد است.

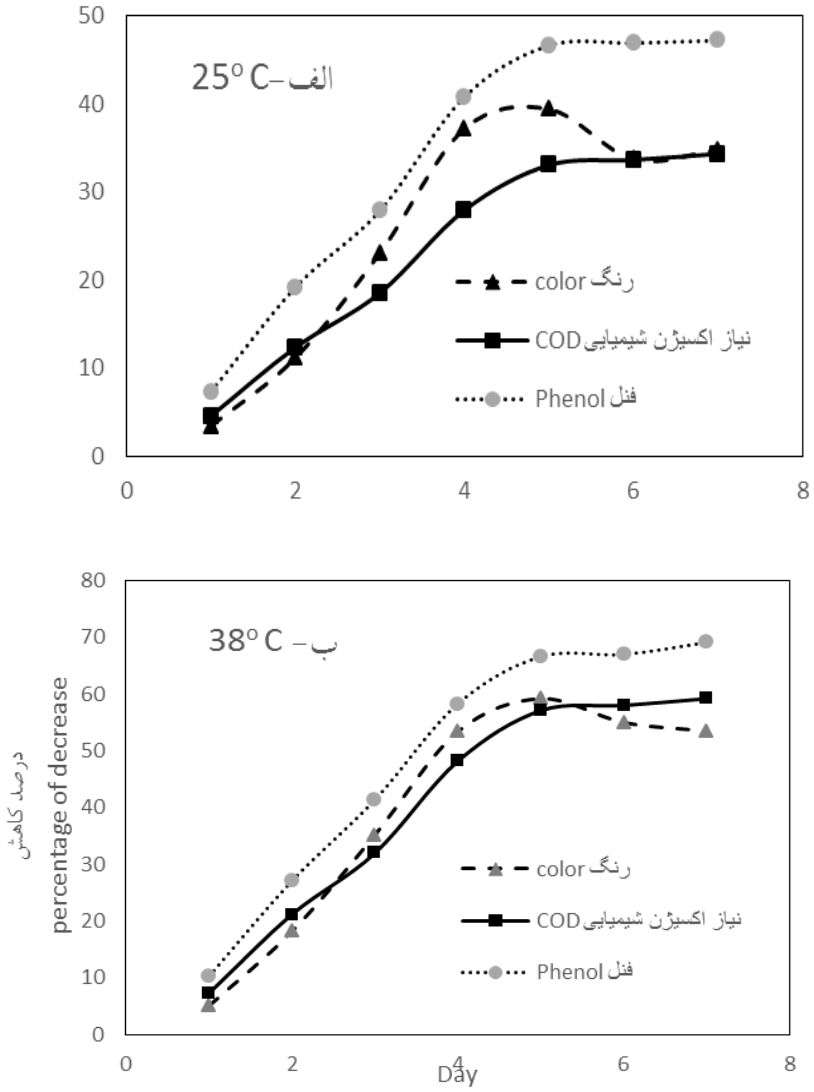
جدول ۱- تجزیه شیمیایی ویناس شرکت الکل‌سازی تقطیر خراسان. همه متغیرها به‌استثنای pH بر حسب میلی‌گرم بر لیتر می‌باشند.

Table 1. Chemical analysis of vinasse provided by Taghtir Khorasan Company. Dimension of all variables except pH are milligrams per liter.

متغیر Factor	تیمارشده Treated
نمک باقی‌مانده TDS	3910
pH	4.38
نیاز اکسیژن شیمیایی COD	29400
نیاز اکسیژن زیستی BOD	9000
کربن آلی کل TOC	20420
فنول Phenol	4150
سولفات SO_4^{2-}	3459
کلراید Cl^-	5340
نیتروزن کل N	1700
پتاسیم کل K	21120
فسفر کل P	700
کلسیم کل Ca	2040
سدیم کل Na	2650
منیزیم کل Mg	2400
منگنز کل Mn	23
آهن کل Fe	145
روی کل Zn	15
مس کل Cu	4

نتیجه تأثیر دوره زمانی کنسرسیوم باکتری بر کاهش رنگ، مقدار COD و فنل موجود در ویناس در دمای ۳۸ و ۲۵ درجه سلسیوس نشان می‌دهد که با گذشت زمان شدت رنگ، مقدار COD و فنل موجود در ویناس کاهش می‌یابد (شکل ۱). تأثیرگذاری کنسرسیوم از روز اول شروع می‌شود و حداکثر تأثیر کنسرسیوم بر ویناس در روز پنجم ایجاد می‌شود و پس از آن به مقدار ثابتی می‌رسد. این روند در دمای ۲۵ درجه سلسیوس با شدت کم‌تر تکرار می‌شود. با افزایش دما از ۲۵ درجه به ۳۸ درجه سلسیوس، مقدار کاهش رنگ از ۳۹/٤۰ درصد به ۵۹/۲۰ درصد، مقدار کاهش COD از ۳۳/۰٦ به ۵۷/۰۲ درصد و کاهش غلظت فنل از ٤٦/٦۲ به ٦٦/٦۰ درصد می‌رسد. با گذشت زمان رشد سلولی باکتری‌ها افزایش یافته و با افزایش جمعیت آن‌ها تأثیرگذاری بر ویناس نیز افزایش می‌یابد. سانتال و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی تأثیر باکتری *Alcaligenes faecalis* بر ویناس در دامنه دمایی ۲۵–۵۵ درجه سلسیوس، بیش‌ترین کاهش رنگ را در دمای ۳۷ درجه گزارش نمودند (۳۵). همچنین مهنا و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که بهترین دمای تأثیر کنسرسیوم مشابه با کنسرسیوم این پژوهش ۳۷ درجه می‌باشد (۲۸).

ترکیبات رنگی به‌دلیل وجود انواع ملانوئیدین‌ها در ویناس می‌باشد. این ترکیبات نسبت به تجزیه مقاوم هستند زیرا در طول فرایندهای مختلف اعمال شده بر ماده خام در تولید الکل مقاومت کرده و در نهایت به محیط زیست وارد می‌شوند. حذف این رنگدانه‌ها همیشه یکی از چالش‌های پژوهشگران در تصفیه بیولوژیکی فاضلاب می‌باشد. به‌نظر می‌رسد توانایی این باکتری‌ها در کاهش رنگ، COD و فنل موجود در ویناس به آنزیم‌های تولید شده توسط آنان مربوط می‌شود. گزارش شده است که ملانوئیدین‌ها توسط گونه‌های اکسیژن فعال (O^{2-} و H_2O_2) تولید شده توسط آنزیم‌ها تجزیه می‌شوند (۸). آنزیم‌های اکسیدکننده و احیاکننده مانند پلی فنل اکسیداز و فنل اکسیداز که توسط قارچ‌های عامل پوسیدگی سفید تولید می‌شوند، در این دسته قرار می‌گیرند (٢٤). برخی پژوهشگران گزارش کرده‌اند که فعالیت‌های اکسیدکننده به واسطه سه آنزیم اصلی لیگنین پرکسیداز، منگنزپرکسیداز و لاکاز انجام می‌شود. در حقیقت پرکسیداز و لاکاز سوبستراهای زیادی دارند که شامل دامنه گسترده‌ای از ترکیبات سمی و رنگدانه‌ها می‌باشد (۲۷). گالای و همکاران (۲۰۰۸) فعالیت آنزیم لاکاز را در باکتری *Stenotrophomonas maltophilia* شناسایی کردند (۱۷) که یکی از باکتری‌های هم‌خانواده موجود در کنسرسیوم استفاده شده در این پژوهش می‌باشد. این آنزیم گلوکز را به گلوکونیک اسید تبدیل می‌کند و محصول فرعی آن H_2O_2 می‌باشد که یک عامل اکسنده قوی محسوب می‌شود (٢٤). به‌نظر می‌رسد تولید آنزیم‌های اکسیدکننده توسط باکتری‌های این کنسرسیوم یکی از مسیرهای تجزیه ویناس باشد.



شکل ۱- تأثیر زمان در کاهش رنگ، COD و فنل موجود در ویناس در دمای الف- ۲۵ و ب- ۳۸ درجه سلسیوس در شرایط بهینه کنسرسیوم باکتریایی.

Figure 1. Time course of reduction of color, COD and phenol in vinasse at 25° and 38° C in optimal conditions by bacterial consortium.

نتایج تأثیر غلظت آلوده‌سازی کنسرسیوم بر ویناس نشان می‌دهد که با افزایش غلظت آلوده‌سازی، تأثیرگذاری کنسرسیوم افزایش می‌یابد و در مورد کاهش رنگ، این تأثیرگذاری در غلظت ۱۰ درصد به مقدار ثابتی می‌رسد (شکل ۲). داهیا و همکاران (۲۰۰۱a) با بررسی تأثیر قارچ *Phanerochaeta chrysosporium* بر ویناس غلظت بهینه آلوده‌سازی را ۵ درصد گزارش نمودند (۱۱). آنان تاکید کردند که غلظت بیش‌تر باعث افزایش بیوماس قارچ می‌شود ولی تأثیری در کاهش رنگ ندارد. در پژوهشی دیگر سیریانونتاپیبون و همکاران (a,b ۲۰۰٤) به نتایج مشابهی رسیدند (۳۷، ۳۸).

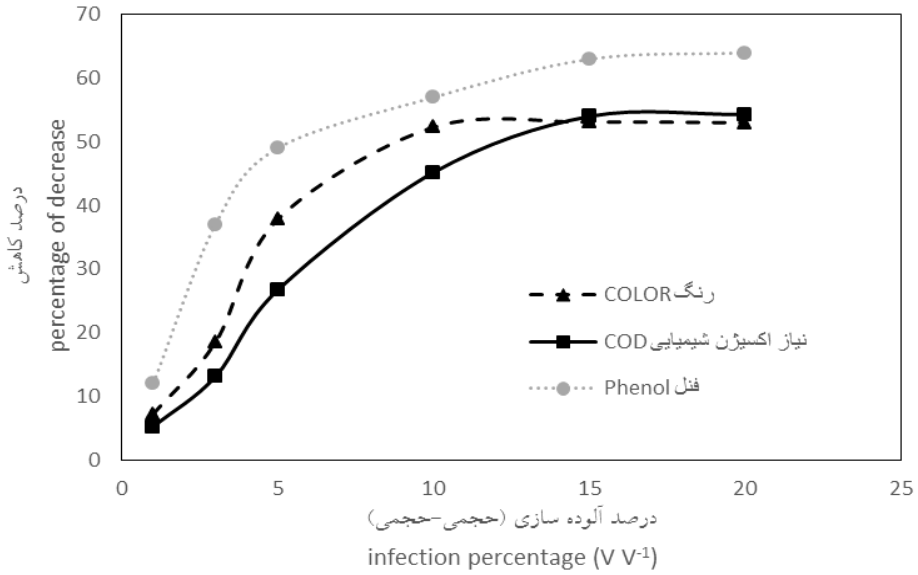
در این پژوهش تأثیر کنسرسیوم در کاهش COD و فنل در غلظت ۱۵ درصد به حداکثر رسید و پس از

آن ثابت ماند. در پژوهشی مهنا و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که حذف ملانوییدین‌ها از ویناس با استفاده از کنسرسیوم مشابه با این پژوهش رابطه مستقیم با غلظت آلوده‌سازی دارد و این مقدار در غلظت ۱۵ درصد حجمی- حجمی ثابت می‌شود و پس از آن افزایش غلظت آلوده‌سازی تأثیری در کاهش رنگ ندارد (۲۸).

عملکرد کنسرسیوم در شرایط متفاوت بهینه‌سازی با افزودن برخی منابع نمک معدنی، کربن و نیتروژن در شکل ۳ دیده می‌شود. بر اساس نتایج به‌دست آمده، اضافه کردن گلوکز و اسید هیومیک، تأثیرگذاری کنسرسیوم را به‌طور قابل‌توجهی افزایش داد. با اضافه کردن گلوکز، مقدار ٤٧/٤ درصد کاهش رنگ، ٤١/٦ درصد کاهش COD و ٣٥/٤ درصد کاهش فنل مشاهده شد. اضافه کردن اسید هیومیک نیز منجر به کاهش ٤١/١، ٣٩/٧ و ٣٣/٧ درصدی به‌ترتیب در رنگ، COD و فنل شد. بیش‌ترین تأثیرگذاری در استفاده هم‌زمان گلوکز و اسید هیومیک بود. در این حالت به‌ترتیب کاهش ٥٨/٦، ٥١/٦ و ٤٣/٩ درصد در رنگ، COD و فنل دیده شد. اضافه کردن نیترات آمونیم تأثیر معنی‌داری در کاهش رنگ، COD و فنل موجود در ویناس نداشت. اضافه کردن نمک‌های معدنی نیز در این مورد افزایش قابل‌توجهی نشان نداد.

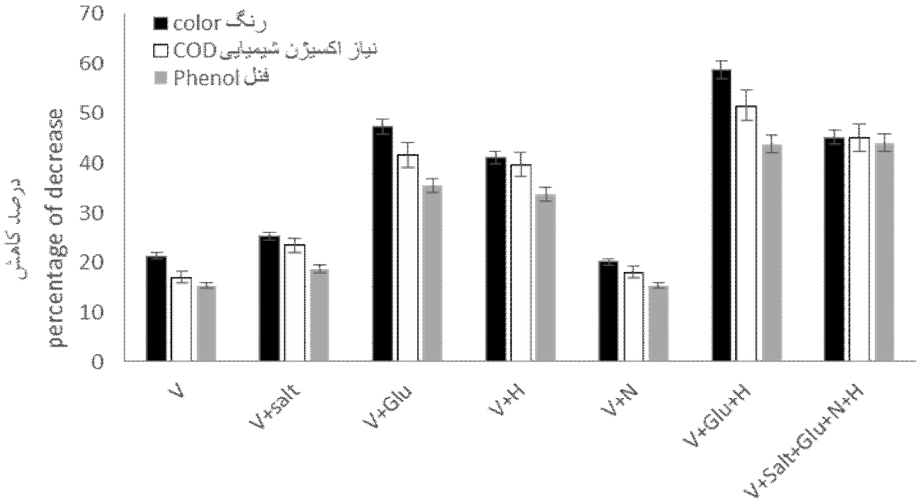
براساس این نتایج، به‌نظر می‌رسد افزودن گلوکز به‌عنوان یک منبع ساده کربن در این مورد ضروری باشد. تریپاثی و تریپاثی (٢٠١٤) تأثیر *Pseudomonas sp.* را بر محلول رقیق ویناس بررسی کردند و غلظت بهینه گلوکز برای حداکثر کاهش رنگ و COD را ٠/٤ درصد اعلام نمودند (٤١). آنان گزارش کردند که غلظت بیش‌تر از ٠/٥ درصد در این مورد تأثیر منفی دارد. این پژوهشگران دلیل این تأثیر منفی را ایجاد شرایط اسیدی در محیط دانستند. در پژوهشی دیگر گوش و همکاران (٢٠٠٤) گزارش نمودند که اضافه کردن گلوکز با غلظت یک درصد برای رشد و فعالیت بی‌رنگ سازی باکتری *Pseudomonas Putida* در ویناس مؤثر می باشد (١٨). همچنین سیریانونتاپیبون و همکاران (a,b ٢٠٠٤) گزارش کردند که وجود گلوکز با غلظت ٢-٣ درصد برای تأثیر مخمر *Citeromyces sp.* بر بی‌رنگ کردن فاضلاب، طی یک دوره ٨ روزه مؤثر بود (٣٧ و ٣٨). در پژوهشی دیگر کومار و همکاران (١٩٩٧) وجود یک درصد گلوکز برای کاهش رنگ و COD در ویناس توسط روش‌های بیولوژیکی را گزارش نمودند (٢٣). با این وجود، کولین و همکاران (٢٠١٦) گزارش نمودند که اکتینوباکتری *Streptomyces sp.* MC1 بدون نیاز به منبع اضافی کربن، قادر به تجزیه ٥٠ درصد کربن قابل تجزیه موجود در ویناس طی مدت ٤ روز می‌باشد (١٠).

حضور اسید هیومیک به‌عنوان منبع پیچیده کربن و همچنین یک عامل محرک رشد باکتری‌ها بر عملکرد کنسرسیوم بر ویناس تأثیر مثبت داشت (شکل ٤). در مورد رنگ ویناس، بیش‌ترین کاهش رنگ در غلظت ٤٠ میلی‌گرم بر لیتر اسید هیومیک دیده شد. در مورد COD و فنل نیز بیش‌ترین کاهش رنگ در غلظت ٣٠-٤٠ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. با افزایش غلظت اسید هیومیک از این مقدار به بعد، کاهش رنگ کم‌تر شد. این موضوع ممکن است به‌دلیل رنگی‌کردن محلول توسط محلول اسید هیومیک باشد.



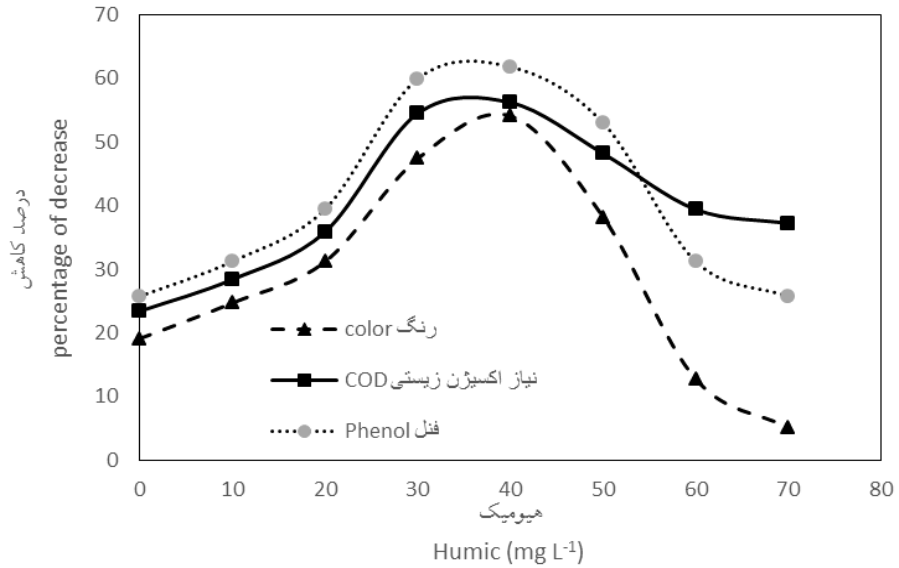
شکل ۲- تأثیر غلظت آلوده‌سازی کنسرسیوم باکتریایی بر ویناس در دمای ۳۸ درجه و شرایط بهینه.

Figure 2. Effect of infection concentration of bacterial consortium in vinasse at 38° C and optimal conditions.



شکل ۳- تأثیر حضور برخی منابع نمک معدنی، کربن و نیتروژن بر کاهش رنگ و تجزیه ویناس تحت‌تأثیر کنسرسیوم در شرایط بهینه (v معرف ویناس، Salt معرف نمک‌های معدنی، H معرف هیومیک، N معرف نیترات آمونیوم و Glu معرف گلوکز می‌باشد.

Figure 3. Effect of mineral salts, carbon and nitrogen sources on decolorization and degradation of vinasse by consortium at optimal conditions (v represents Vinasse, Salt represents inorganic salts, H represents humic, N represents nitrate and Glu represents glucose.



شکل ٤- تأثیر غلظت اسید هیومیک بر تأثیرگذاری کنسرسیوم باکتریایی بر ویناس در دمای ۳۸ درجه و شرایط بهینه.

Figure 4. Effect of humic acid on bacterial consortium influence on vinasse at 38° C and optimal conditions.

تأثیر مثبت اسید هیومیک بر افزایش رشد میکروارگانیسم‌ها در گذشته توسط پژوهشگران تأیید شده است (۳۹). ویزر (۱۹۸۵) گزارش نمود که حضور اسید هیومیک در غلظت‌های بیش‌تر از ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر در شرایط درون‌شیشه‌ای، باعث افزایش تعداد میکروارگانیسم‌ها می‌شود (٤۲). در مورد تأثیر مستقیم مواد هیومیک بر رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها نظرات متفاوتی وجود دارد. برخی پژوهشگران بر این عقیده هستند که مواد هیومیک به‌عنوان منبع غذا و انرژی برای میکروارگانیسم‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۳). همچنین ماتور و پائول (۱۹٦٦) نیز گزارش کرده‌اند که *Pseudomonas sinuosa* و *Actinomyces* sp. می‌توانند از مواد هیومیک به‌عنوان منبع غذا و انرژی استفاده کنند (۲٦). نیلاکانتان و همکاران (۱۹۷۰) گزارش مشابهی را در مورد *Aspergillus* sp. و *Streptomyces* sp. با استفاده از نیتروژن نشان‌دار شده ارائه نمودند (۳۱). هاروی و بوران (۱۹۸۵) نیز گزارش کردند که میکروارگانیسم‌ها قادرند با استفاده از برخی آنزیم‌ها، گروه کربوکسیل آزاد مواد هیومیک را جدا کرده و مورد استفاده قرار دهند (۱۹).

در مقابل برخی پژوهشگران معتقدند که مواد هیومیک نمی‌توانند به‌عنوان منبع غذای هتروتروفیک مورد استفاده قرار گیرند. در این‌جا فرض بر این است که مواد هیومیک توسط نوعی مکانیسم کومتابولیسمی توسط میکروارگانیسم‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۳). کومتابولیسم فرایندی است که در آن مواد هیومیک توسط میکروارگانیسم‌ها جذب می‌شود ولی به‌عنوان منبع غذا و یا انرژی مورد استفاده قرار نمی‌گیرد. احتمالاً مواد هیومیک برای رشد سلولی و کمک به تجزیه سایر مواد آلی به میکروارگانیسم‌ها کمک می‌کند. از حالت‌های دیگر تأثیر مواد هیومیک در رشد میکروارگانیسم‌ها می‌توان به فعالیت شبه‌هورمونی آن‌ها، جلوگیری از فسفوریلاسیون اکسیداتیو و همچنین تأثیر این مواد به‌عنوان تنظیم‌کننده نفوذپذیری غشای سلولی اشاره کرد (۱٦، ۷). در پژوهش حاضر، گلوکز به‌عنوان منبع ساده غذایی در محلول ویناس وجود دارد و همچنین نیتروژن نیز به اندازه کافی در اختیار می‌باشد، ولی اضافه کردن اسید هیومیک هم‌چنان تأثیر مثبت خود را در افزایش فعالیت کنسرسیوم داشته است. به‌نظر می‌رسد تأثیر اسید

هیومیک بیشتر به‌دلیل ویژگی‌های خاص آن در کمک به رشد سلولی باشد و تأثیر آن به‌عنوان منبع غذا و انرژی کم‌تر محتمل است.

آنالیز نهایی یک نمونه ویناس تیمارشده با کنسرسیوم همراه با نمونه ویناس خام نشان داد که مقدار COD و BOD به‌ترتیب ۵۷/۱ و ۷۵/۷ درصد کاهش یافته است و نسبت BOD/COD به مقدار ۰/۱۷ رسیده است (جدول ۲). مقدار فنل نیز ٦٦/٦ درصد کاهش یافته است. مقدار کل نمک‌های حل شده نیز کم‌تر شده است. مقدار کل سایر ترکیبات تغییر چندانی نداشته است (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه شیمیایی ویناس رقیق (یک دوازدهم) بدون تیمار و تیمارشده با کنسرسیوم در شرایط بهینه.

Table 2. Chemical analysis of diluted untreated vinasse (one-twelfth) and treated with the consortium at optimal condition.

متغیر Factor	تیمارشده Treated	تیمارنشده Untreated
نمک باقی‌مانده TDS	2.67	3.25
pH	7.07	4.22
نیاز اکسیژن شیمیایی COD	1050	2450
نیاز اکسیژن زیستی BOD	182	750
کربن آلی کل TOC	1412	1701
فنول Phenol	115	346
سولفات $SO4^{2-}$	245	288
کلراید Cl^-	438	445
نیتروژن کل N	123	141
پتاسیم کل K	1754	1760
فسفر کل P	57	58
کلسیم کل Ca	170	172
سدیم کل Na	220	220
منیزیم کل Mg	196	201
منگنز کل Mn	1.91	1.93
آهن کل Fe	12.0	12.1
روی کل Zn	1.18	1.25
مس کل Cu	0.34	0.33

در این پژوهش تأثیر اضافه کردن ویناس خام و تیمارشده با کنسرسیوم باکتری بر جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌های خاک در جدول ۳ دیده می‌شود. قارچ‌ها و باکتری‌ها نقش مهمی در فعالیت‌های بیولوژیکی خاک‌ها و تجزیه مواد آلی اضافه شده به خاک و چرخه عناصر غذایی در خاک دارند. میکروارگانیسم‌های خاک با اکسید کردن کربن آلی، گاز دی‌اکسیدکربن متصاعد می‌کنند. بر اساس نتایج این پژوهش، اضافه کردن ویناس خام باعث افزایش جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌های خاک شد. پس از گذشت ۳۳ روز، جمعیت باکتری‌ها تحت‌تأثیر ویناس خام و تیمارشده به‌ترتیب ۲۷/٦ و ۱۷/۰ درصد افزایش یافت. این روند به‌طور تقریباً مشابه در روز ٦٦ نیز تکرار شده است. در نهایت با گذشت ۹۹ روز، جمعیت باکتری‌ها نسبت به روز ٦٦ تغییر معنی‌دار نداشت ولی نسبت به روز ۳۳ اختلاف معنی‌دار بود. جمعیت قارچ‌ها در روز ۹۹ در ویناس خام، نسبت به روز ٦٦ کاهش یافت و با روز ۳۳ تفاوت معنی‌دار ندشت. در ویناس تیمارشده، در روز ۹۹ جمعیت قارچ‌ها به‌طور معنی‌دار بیش از روزهای ۳۳ و ٦٦ بود. به‌طورکلی اضافه کردن ویناس خام نسبت به ویناس تیمارشده با کنسرسیوم تأثیر بیش‌تری روی افزایش جمعیت قارچ‌ها و باکتری‌ها داشت.

به‌نظر می‌رسد اضافه کردن ویناس به‌عنوان یک منبع کربن در این پژوهش نقش مهمی در افزایش جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌ها داشته باشد. جمعیت میکروارگانیسم‌ها بیش‌تر تحت‌تأثیر مقدار مواد آلی خاک قرار می‌گیرد (۳۲). در توافق با نتایج حاصل از این پژوهش ساسدوکاستیلو و همکاران (۲۰۱۵) و همچنین ناوارت و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که کاربرد ویناس همراه با کود نیتروژنی باعث افزایش بیوماس میکروبی در خاک‌ها می‌شود (۳۰، ۳٦). آنان همچنین اعلام کردند که در میان گروه‌های مختلف میکروبی، *Actinobacteria*، *Acidobacteria*، *Gammaproteobacteria* و *Verrucomicrobia* بیش‌تر از سایر گروه‌های میکروبی تحت‌تأثیر کاربرد ویناس توام با کود نیتروژنی قرار گرفتند (۳٦).

همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کاربرد ویناس، جمعیت باکتری‌ها را بیش‌تر از قارچ‌ها افزایش می‌دهد که این نتایج در توافق با نتایج وی و همکاران (۲۰۱٤) می باشد که با بررسی تأثیر کاربرد ویناس بر مزارع نیشکر گزارش کردند که جمعیت میکروارگانیسم‌ها بر اثر کاربرد ویناس افزایش می‌یابد و این افزایش جمعیت در باکتری‌ها بسیار بیش‌تر از قارچ‌ها بود (٤٤). این در حالیست که بر خلاف این، یانگ و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که کاربرد ویناس تأثیر معنی‌داری بر جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌ها نداشته است اما جمعیت اکتینومیست‌ها را به‌طور معنی‌دار تا ۷۲ درصد افزایش داده است (٤٥). همچنین در پژوهشی دیگر آلیکسو و همکاران (۲۰۱٤) با بررسی بیوماس میکروبی خاک‌های تحت کشت نیشکر گزارش کردند که کاربرد ویناس تأثیر معنی‌داری بر بیوماس باکتری و قارچی نداشت (۳) که بر خلاف نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر می‌باشد.

در مجموع به‌نظر می‌رسد که در ویناس تیمارشده، با کاربرد ویناس، بخشی از مواد آلی قابل تجزیه، توسط باکتری‌های کنسرسیوم تجزیه شده و ممکن است به همین دلیل تأثیرگذاری آن بر افزایش جمعیت میکروارگانیسم‌ها کم‌تر از ویناس خام باشد. اگرچه ویناس تیمارشده نسبت به ویناس خام برای محیط زیست خطرات کم‌تری دارد.

جدول ۳- تأثیر تیمارهای مختلف بر جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌های خاک.

Table 3. The effect of different treatments on soil bacterial and fungal population.

روز ۹۹ Day 99			روز ٦٦ Day 66			روز ۳۳ Day 33			
تیمار Treated	خام Raw	شاهد blank	تیمار Treated	خام Raw	شاهد blank	تیمار Treated	خام Raw	شاهد blank	
189 b	206 a	125 g	175 d	191 b	126 g	165 e	180 c	141 f	جمعیت باکتری‌ها در گرم خاک ($\times 10^4$) Population of the bacteria per gram of soil
189 b	177 c	111 g	166 d	211 a	132 e	164 d	178 c	121 f	جمعیت قارچ‌ها در گرم خاک ($\times 10^2$) Population of the fungi per gram of soil

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که استفاده از کنسرسیوم متشکل از سه باکتری *Pseudomonas aeruginosa*، *Stenotrophomonas maltophila* و *Proteus mirabilis* با ایجاد شرایط بهینه در دمای ۳۸ درجه طی مدت ۵ روز قادر به کاهش درصد بالایی از رنگ، COD و مواد فنولیک می‌باشد. استفاده از این کنسرسیوم برای تجزیه زیستی ویناس تولیدشده در کارخانجات چغندر، قبل از رهاسازی آن‌ها به محیط زیست می‌تواند تأثیر منفی بالقوه آن‌ها را کاهش دهد. همچنین با اضافه نمودن گلوکز به‌عنوان منبع ساده کربن و اسید هیومیک به‌عنوان محرک رشد می‌توان تأثیرگذاری کنسرسیوم بر ویناس را افزایش داد. بر اساس نتایج این پژوهش، اضافه کردن ویناس خام و تیمارشده به خاک باعث افزایش جمعیت قارچ‌ها و باکتری‌ها می‌شود که تأثیرگذاری ویناس خام در این مورد بیش‌تر است و بنابراین کاربرد ویناس در خاک برای افزایش جمعیت میکروارگانیسم‌های خاک می‌تواند مدنظر قرار گیرد.

منابع

1.Abderrazik, N., Al Momani, F., Rodriguez, M., Azmani, A., Sans, C., and Esplugas, S. 2002. Biodegradability improvement by photo fenton reaction. Afinid. LIX (500), 391-398.

2.Acharya, B.K., Mohana, S., and Madamwar, D. 2008. Anaerobic treatment of distillery spent wash–a study on upflow anaerobic fixed film bioreactor. Bioresour. Technol. 99: 11. 4621-4626.

3.Aleixo, A.P., Kaschuk, G., and Alberton, O. 2014. Soil fungal and bacterial biomass determined by epifluorescence microscopy and mycorrhizal spore density in different sugarcane managements. Ciênc Rural. 44: 588-594.

4.Aliasgharzad, N. 2006. Methods in Soil Biology. Tabriz University Press. (In Persian)

5.Beltran, F.J., Garcia-Araya, J.F., and Alvarez, P.M. 1999a. Wine distillery wastewater degradation. 1. Oxidative treatment using ozone and its effect on the wastewater biodegradability. J. Agric. Food Chem. 47: 3911-3919.

6.Beltran-de-Heredia, J., Dominguez, J.R., and Partido, E. 2005b. Physico-chemical treatment for the depuration of wine distillery wastewaters (vinasses). Water Sci. Technol. 51: 1. 159-166.

7.Canellas, L.P., Piccolo, A., Dobbss, L.B., Spaccini, R., Olivares, F.L., Zandonadi, D.B., and Facanha, A.R. 2010. Chemical composition and bioactivity properties of size-fractions separated from a vermicompost humic acid. Chemosphere, 78: 4. 457-466.

8.Chandra, R., Bharagava, R.N., and Rai, V. 2008. Melanoidins as major colourant in sugarcane molasses based distillery effluent and its degradation. Bioresource Technology, 99: 4648-4660.

9.Clesceri, L., Greenberg, A., and Eaton, A. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th Ed. A.P.H.A., Washington D.C.
10.Colin, V.L., Juárez Cortes, A.A., Aparicio, J.D., and Amoroso, M.J. 2016. Potential application of a bioemulsifier-producing actinobacterium for treatment of vinasse. Chemosphere. 144: 842-847.
11.Dahiya, J., Singh, D., and Nigam, P. 2001a. Decolourisation of molasses wastewater by cells of Pseudomonas fluorescens immobilized on porous cellulose carrier. Bioresour. Technol. 78: 111-114.
12.Decloux, M., Bories, A., Lewandowski, R., Fargues, C., Mersad, A., Lameloise, M., Bonnet, F., Dherbecourt, B., and Osuna, L. 2002. Interest of electrodialysis to reduce level in vinasses. Preliminary experiments, Desalination. 146: 393-398.
13.De Haan, H. 1977. Effect of benzoate on microbial decomposition of fulvic acids in Tjeukemeer (the Netherlands). Limnol. Oceanogr. 22: 38-44.
14.Diaz, M., Eugenio, M., Jimenez, L., Madejon, E., and Cabrera, F. 2003a. Modelling vinasse/cotton waste ratio incubation for optimum composting. Chem. Eng. J. 93: 233-240.
15.Fadil, K., Chahlaoui, A., Ouahbi, A., Zaid, A., and Borja, R. 2003. Aerobic biodegradation and detoxification of wastewater from the olive oil industry. Int. Biodeter. Biodegr. 51: 37-41.
16.Flaig, W. 1970. Effect of humic substances on plant metabolism. Proc. 2nd Int. Peat Congress, Leningrad, Pp: 579-606.
17.Galai, S., Limam, F., and Marzouki, M.N. 2008. A new *Stenotrophomonas maltophilia* strain producing laccase, use in decolorization of synthetic dyes. Applied Biochemistry and Biotechnology. 158: 416-431.
18.Gosh, M., Verma, S.C., Mengoni, A., and Tripathi, A.K. 2004. Enrichment and identication of bacteria capable of reducing chemical oxygen demand of anaerobically treated molasses spent wash. J. Appl. Microbiol. 96: 1278-1286.
19.Harvey, G.R., and Boran, D.A. 1985. Geochemistry of humic substances in seawater, P 233-247. In: Humic Substances in Soil, Sediment, and Water. Geochemistry, Isolation, and Characterization, Aiken, G.R., McKnight, D.M., Wershaw, R.L., and MacCarthy, P. (eds.). Wiley-Interscience, New York.
20.Jimenez, A.M., Borja, R., and Martin, A. 2003. Aerobic-anaerobic biodegradation of beet molasses alcoholic fermentation wastewater. Process Biochem. 38: 1275-1284.
21.Jimenez, A.M., Borja, R., Martin, A., and Raposo, F. 2005. Mathematical modelling of aerobic degradation of vinasses with *Penicillium decumbens*. Process Biochem. 40: 2805-2811.
22.Kelly, J.J., Hggblom, M., and Tate, R.L. 1999. Changes in soil microbial communities over time resulting from one time application of zinc: a laboratory microcosm study. Soil Biol. Biochem. 31: 1455-1465.
23.Kumar, V., Wati, L., Fitzgibbon, F., Nigam, P., Banat, I.M., Singh, D., and Marchant, R. 1997. Bioremediation and decolorization of anaerobically digested distillery spent wash. Biotechnol. Lett. 19: 285-290.
24.Libra, J.A., Borchert, M., and Banit, S. 2003.Competition strategies for the decolorization of a textile-reactive dye with the white-rot fungi *Trametes versicolor* under non-sterile conditions, Biotechnology and Bioengineering. 82: 6. 736-744.
25.Livernoche, D., Jurasek, L., desrochers, M., and Dorika, J. 1983. Removal of colour from kraft mill wastewaters with cultures of white-rot fungi and with immobilized mycelium of *Coriolus versicolor*. Biotechnol. Bioeng. 25: 2055-2065.
26.Mathur, S.P., and Paul, E.A. 1966. A microbiological approach to the problem of soil humic acid structure. Nature, (London). 212: 646-647.
27.Máximo, C., Pessoa, T., Amorim, M., and Costa-Ferreira, M. 2003. Biotransformation of industrial reactive azo dyes by *Geotrichum* sp. CCMI 1019, Enzyme and Microbial Technology 32: 145-151.
28.Mohana, S., Desai, C., and Madamwar, D. 2007. Biodegradation and decolourisation of anaerobically treated distillery spent wash by a novel bacterial consortium. Biores. Technol. 98: 333-339.

29.Murthy, Z.V.P., and Chaudhari, L.B. 2009. Treatment of distillery spent wash by combined UF and RO processes. Global Nest J. 11: 2. 235-240.
30.Navarrete, A.A., Diniz, T.R., Braga, L.P.P., Silva, G.G.Z., Franchini, J.C., and Rossetto, R. 2015. Multi-Analytical Approach Reveals Potential Microbial Indicators in Soil for Sugarcane Model Systems.PLOS ONE. 10: 6. e0129765.
31.Neelakantan, S., Misira, M.M., Tewari, H.K., and Vyas, S.R. 1970. Characterization and microbial utilization of humic acid in Hissar soil. Agrochimica. 14: 341-344.
32.Pansombat, K., Kanazawa, S., and Horiguchi, T. 1996. Microbial ecology in tea soils 1. Soil properties and microbial populations. Soil Science and Plant Nutrition. 43: 317-327.
33.Prát, S. 1960. Distribution of the humus substance function in plants. Biol. Plant. 2: 308-312.
34.Robles-Gonzalez, V. 2011. Integrated treatment of mezcal vinasses for depuration and discharge. Doctoral Thesis. ENCB del IPN. Mexico, D.F., Mexico.
35.Santal, A.R., Singh, N.P., and Saharan, B.S. 2011. Biodegradation and detoxification of melanoidin from distillery effluent using an aerobic bacterial strain SAG5 of *Alcaligenes faecalis*. Journal of Hazardous Materials. 193: 319-324.
36.Saucedo Castillo, O., Prado, R.M., Castellanos González, L., Ely, E., Silva Campos, S.N., Da Silva, G.P., and Assis, L.C. 2015. Effect of the phosphate fertilizer with filter cake on soil microbial activity and phosphorous uptake in sugar cane. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo. 47: 1. 33-42. (In Spanish)
37.Sirianuntapiboon, S., Phothilangka, P., and Ohmomo, S. 2004b. Decolorization of molasses wastewater by a strain no. BP103 of *acetogenic bacteria*. Bioresour. Technol. 92: 31-39.
38.Sirianuntapiboon, S., Zohsalam, P., and Ohmomo, S. 2004a. Decolorization of molasses wastewater by *Citeromyces* sp. WR-43-6. Proc. Biochem. 39: 917-924.
39.Stewart, A.J., and Wetzel, R.G. 1982. Influence of dissolved humic material on carbon assimilation and alkaline phosphatase activity in natural algal–bacterial assemblages. Freshw. Biol. 12: 369-380.
40.Tejada, M., Garcia-Martinez, A.M., and Parrado, J. 2009. Effects of a vermicompost composted with beet vinasse on soil properties, soil losses and soil restoration. CATENA. 77: 3. 238-247.
41.Tripathi, D.M., and Tripathi, S. 2014. Assessment of distillery effluent irrigation on soil microbial and its bioremediation. Octa J. Environ. Res. 2: 4. 303-309.
42.Visser, S.A. 1985. Physiological action of humic substances on microbial cells. Soil Biol. Biochem. 17: 457-462.
43.Vlyssides, A.G., Israilides, C.J., Loizidou, M., Karvouni, G., and Mourafeti, V. 1997. Electrochemical treatment of vinasse from beet molasses. Water Sci. Technol. 36: 2-3. 271-278.
44.Wei, M.M., Xu, G.P., Guo, H.R., Wang, X.F., and Chen, L.J. 2014. Effect of vinasse application on soil in sugarcane fields. Applied Mechanics and Materials. 700: 270-275.
45.Yang, S.D., Liu, J.X., Wu, J., Tan, H.W., and Li, Y.R. 2013. Effects of vinasse and press mud application on the biological properties of soils and productivity of sugarcane. Sugar Tech. 15: 152-158.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

J. of Water and Soil Conservation, Vol. 23(6), 2017
http://jwsc.gau.ac.ir

Effect of enrichment and microbial inoculation on properties of sugar beet vinasse for application in farmland

***A. Hassani[1] and M. Nourzadeh Haddad[2]**
[1]Assistant Prof., Dept. of Soil Science, University of Zanjan, Iran,
[2]Assistant Prof., Dept. of Agriculture, Payame Noor University, Iran
Received: 07/10/2016; Accepted: 10/30/2016

Abstract
Background and Objectives: Vinasse is a dark brown effluent of ethanol industrial process, which contains different organic and inorganic compounds and disposal of vinasse into the environment may create some problems. In recent years, different point of view at by-products and their application is taken into consideration. Application of vinasse in farmlands as a part of soil fertilization program is one of the cases. The aim of this study was to evaluate the effect of vinasse treatment with a consortium of three different bacteria and the effects on chemical and biological oxygen demand, phenol concentration and color of vinasse and also the effects of raw and treated vinasse on soil fungal and bacterial populations.
Materials and Methods: Vinasse was supplied from Taghtir Khorasan company. In this study, A bacterial consortium comprising of three bacterial cultures, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophila* and *Proteus mirabilis* was used to degrade vinasse. The effects of temperature degree, inoculum concentration, presence of mineral salts, different concentrations of humic acid and various sources of carbon and nitrogen on vinasse degradation was studied. To evaluate the effect of raw and treated vinasse on soil microbial community, populations of soil bacteria and fungi as an indicator of microbial population was determined.
Results: The results showed that in optimum condition with inoculum concentration of 10 percent V/V at 38 ºC under static condition the consortium reduced chemical and biological oxygen demand 57.1% and 75.7% respectively within 5 days. Also 59.2% decolorization and 66.6% reduction in phenolic matters was observed. Glucose as a simple source of carbon increased the effectiveness of the consortium and humic acid as a complex source of carbon had a positive effect on the consortium effectiveness on vinasse. The most decolorization and reduction of chemical oxygen demand and phenol was in concentration of 40 mg L^{-1} of humic acid. Soil bacterial populations increased 27.6% and 17.0% by adding raw and treated vinasse to soil within 33 days. This was repeated almost similar to fungi.
Conclusion: The results of this study showed the application of the consortium at optimum condition could considerably reduce color, chemical oxygen demand and phenolic matter concentration in vinasse and treating the raw vinasse with the consortium to reduction the potentially harmful effects could considered in ethanol industry. Adding raw and treated vinasse to soil, increased fungal and bacterial populations which the effect of raw vinasse was more than treated one.

Keywords: Vinasse, Bacterial consortium, Biologycal treatment, Humic acid, Biologycal oxygen demand

* Corresponding Author; Email: akbar.hassani@znu.ac.ir