Archive of SID

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
موسسه پژوهشی علوم و فناوری رنگ و پوشش

available online @ www.jcst.icrc.ac.ir
نشریه علمی- پژوهشی علوم و فناوری رنگ/ ۱۰ (۱۳۹۵)، ۷۰-۶۵

نشریه علمی پژوهشی علوم و فناوری رنگ
Journal of Color Science and Technology
www.jcst.icrc.ac.ir

مطالعه تجزیه میکروبی ماده رنگزای ایندیگوکارمین توسط باکتری گرم منفی اسینتوباکتر لووفی

سلمان احمدی اسب‌چین[1*]، حسنا مرادی[2]، رضا تبارکی[3]

۱ـ دانشیار، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران، صندوق‌پستی: ۴۷۴۱۶-۹۵۴۴۷
۲ـ کارشناسی‌ارشد، میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران، صندوق‌پستی: ۵۱۶-۶۹۳۱۵
۳ـ دانشیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران، صندوق‌پستی: ۵۱۶-۶۹۳۱۵

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۳ در دسترس به صورت الکترونیکی از: ۱۳۹۵/۳/۲۰

چکیده

مواد رنگزای مصنوعی در صنایع به ویژه صنایع نساجی کاربرد دارند. در حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد مواد رنگزای مصنوعی مورد استفاده، طی انجام فرآیند رنگرزی هدر رفته و به‌عنوان آلاینده‌ای مضر و سمی وارد فاضلاب‌های صنایع می‌شود. این مواد رنگزا علاوه بر اینکه تهدیدی برای منابع آبی، خاک و اتمسفر هستند، باعث بروز مشکلات جدی برای موجودات زنده در اکوسیستم و به ویژه انسان می‌گردند. بنابراین حذف این رنگزاها از محیط‌زیست ضروری به نظر می‌رسد. روش‌های مختلف فیزیکی و شیمیایی برای تجزیه رنگزاهای موجود در پساب‌های نساجی وجود دارد اما از نظر اقتصادی پرهزینه هستند. از روش تجزیه زیستی به‌عنوان روش جایگزین و مطمئن درسال‌های اخیر استفاده گردید، زیرا روش‌های تجزیه زیستی ارزان، بی خطر و دوستدار محیط‌زیست هستند. در این روش‌ها از میکروب‌ها به ویژه باکتری‌ها جهت حذف ماده رنگزا استفاده می‌شود. در این مطالعه از باکتری اسینتوباکتر لووفی استفاده گردید، رنگ‌زدایی بوسیله این باکتری در سیستمی که شامل محیط کشت و رنگ است مورد بررسی قرار گرفت. عوامل بهینه‌سازی رنگ‌زدایی ایندیگوکارمین شامل زمان، غلظت اولیه ماده رنگزا، pH و دما بررسی گردید. بررسی نتایج نشان داد، در زمان ۵۴ ساعت، دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر و pH= ۹ بیشینه رنگ‌زدایی که برابر ۹۹,۰۲ درصد است صورت گرفت.

واژه‌های کلیدی: اسینتوباکتر لووفی، ایندیگوکارمین، تجزیه زیستی رنگزا.

Study of Microbial Decolorization of Indigo Carmine Dye by Acinetobacter Lwoffii

S. Ahmady-Asbchin[1], H. Moradi[2], R. Tabaraki[2]

[1] Department of molecular and Cell Biology, University of Mazandaran, P. O. Box: 47416-95447, Babolsar, Iran
[2] Department of chemistry, University of Ilam, P. O. Box: 69315-516, Ilam, Iran

Received: 15-05-2015 Accepted: 24-11-2015 Available online: 09-06-2016

Abstract

Synthetic dyes are being employed by industries, especially by textile industries. About 10 to 15 percent of synthetic dyes are wasted during dying process and enter industrial wastewaters as toxic and harmful pollutants. These kind of dyes are not only a threat to water resources, soil and atmosphere, but also cause serious problems for living organisms particularly humans in the ecosystem. Therefore, removing them from environment is imperative. Various physical and chemical methods for textile dyes degradation from wastewaters have been developed but they are extremely costly. In recent years, biodegradation approach because of its cost-effectiveness and safety has been used as an alternative and safe method. In this method, microorganisms, particularly bacteria are used for removing dyes. In this study, however, we used Acinetobacter lwoffii bacteria. Decolorization by these bacteria was investigated by a system which contained both medium and dye. Furthermore, decolorization optimizing parameters of Indigo carmine including time, initial dye concentration, pH and temperature were investigated. The results demonstrated that over a period of 54 h, at 50 ° C, 150 mg/l of concentration and pH=9, maximum decolorization of 99.02 percent was performed. J. Color Sci. Tech. 10(2016), 65-70©. Institute for Color Science and Technology.

Keywords: Acinetobacter lwoffii, Indigo carmine, Biodegradation dye.

***Corresponding author: sa.ahmadi@umz.ac.ir**

www.SID.ir

Archive of SID

۱ـ مقدمه

رشد جمعیت جهان و افزایش بیش از حد فعالیت‌های صنعتی به همراه عدم رعایت استانداردهای زیست‌محیطی سبب شده تا در دهه‌های اخیر مقادیر زیادی از آلاینده‌ها به محیط وارد شوند و نه تنها منابع آب، بلکه اتمسفر و خاک را نیز آلوده کنند. تجمع این ترکیبات در محیط زیست تهدیدی برای سلامتی انسان، محیط‌زیست، اکوسیستم‌های زنده و موجودات به‌حساب می‌آید [۱-۴].

در این میان صنایع نساجی و رنگرزی ازجمله صنایعی هستند که به میزان بالا از آب و انواع مواد رنگزها استفاده می‌کنند. فاضلاب‌های خارج شده از فعالیت صنایع مذکور از نظر شیمیایی بسیار آلوده هستند [۵]. ماده رنگزای موجود در آب و پساب‌های صنعتی شاخصی مستقیم از آلودگی آب به‌شمار می‌آید، ازاین رو رنگزها یکی از آلوده‌کننده‌های اصلی در پساب نساجی محسوب می‌گردند [۶-۸]. از آنجا که در صنعت نساجی به میزان قابل توجهی از رنگزها استفاده می‌شود، لذا حجم بالایی از رنگزا و دیگر ترکیبات شیمیایی نیز وارد فاضلاب‌های این صنایع می‌گردد. در حدود ده هزار رنگزا مختلف در صنایع کاربرد دارد و سالانه حدود هفتاد هزار تن رنگزا در سراسر جهان تولید می‌شود که تخمین زده شده ۱۵-۱۰ درصد این رنگزاها طی مراحل رنگرزی از دست می‌رود و وارد فاضلاب صنایع مربوطه می‌گردد [۹-۱۰].

مواد رنگزایی که در صنایع رنگرزی به کار می‌روند براساس کاربردی که دارند شامل رنگزاهای بازی[1]، رنگزاهای اسیدی[2]، رنگزاهای مستقیم[3]، رنگزاهای دندانه‌ای[4]، رنگزاهای آزوئیکی[5]، رنگزاهای گوگردی[6] رنگزاهای خمره‌ای[7]، رنگزاهای دیسپرس[8] و رنگزاهای راکتیو[9] می‌باشند [۷،۱۱]. طبقه‌بندی دیگر هم برای رنگزاها وجود دارد که براساس ساختار شیمیایی آنهاست. در این راستا رنگزاها در سه بخش عمده رنگزاهای کاتیونی، رنگزاهای آنیونی و رنگزاهای خنثی قرار می‌گیرند [۱۳، ۱۲].

اولین رنگزای مصنوعی تجاری به نام ماووین[10] در سال ۱۸۵۶ به‌طور تصادفی توسط ویلیام هنری‌پرکین کشف و تا پایان قرن نوزدهم بیش از ۱۰۰۰۰ رنگزا و رنگدانه مصنوعی آلی تهیه و به بازار عرضه شد. تخمین زده شده که درحال حاضر سالیانه حدود ۷۰۰۰۰۰ تن رنگزا مصنوعی در سراسر جهان تولید می‌شود، از این مقدار حدود ۱۵-۱۰ درصد که تقریباً ۲۸۰۰۰۰ تن می‌شود وارد فاضلاب صنایع مرتبط شده و براساس فعالیت‌های مختلف در محیط‌زیست تجمع می‌یابد [۹، ۱۰].

فرآیندهای صنعتی عموما در نزدیک آب انجام می‌شوند، به‌طوری‌که بیشتر کارخانه‌های نساجی، رنگرزی، آبکاری فلزات و غیره در مجاورت رودخانه‌ها و جایی که آب وجود دارد قرار دارند، درنتیجه این فرآیندها به همراه فاضلابی که از این صنایع خارج می‌شود آلودگی‌های آب را از طریق موادآلی و غیرآلی افزایش می‌دهند. رنگزاها ازجمله خطرناک‌ترین آلوده‌کننده‌های موثر بر آب‌ها هستند که حضورشان در آب نشانه‌ای بر آلودگی آب است. واضح است که اکوسیستم‌های آبی داخلی به شدت درمعرض خطر هستند [۱۴]. فاضلاب این صنایع علاوه بر همراه داشتن انواع مواد رنگزای مصنوعی دارای تولیداتی نظیر اسیدها، شوینده‌ها، اکسیدکننده‌ها، نمک‌ها و غیره می‌باشد[۸].

تخلیه پساب‌های رنگی این صنایع به داخل رودخانه‌ها و دریاچه‌ها باعث ایجاد مشکلاتی برای آب، و نیز مرگ گیاهان و جانوران آبزی می‌گردد. در نتیجه این آلودگی‌ها زندگی موجودات آبزی را به مخاطره انداخته و می‌تواند از طریق چرخه غذایی به انسان‌ها منتقل شود [۱۸-۱۵]. پساب‌های رنگی که از طریق آب آلوده به بدن انسان وارد می‌شود می‌تواند سبب اختلالاتی مانند تهوع، سوراخ شدن سپتوم بینی، زخم شدن پوست و غشای مخاطی، آسیب کلیوی، گرفتگی عضلات، آماس پوست، خونریزی، فشار خون بالا، تب پراکنده، سوزش شدید دستگاه تنفسی و یا سرطان شود [۱۹].

روش‌های حذف رنگزاها از فاضلاب عبارتند: روش‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی، هرکدام ازاین سه روش خود شامل چندین زیر مجموعه دیگر می‌باشند [۱۹]. انجام روش‌های فیزیکوشیمیایی جهت درمان فاضلاب صنایع دارای چندین مشکل اساسی است که عبارتند از: قادر نبودن به حذف کامل رادیکال‌های رنگزا و متابولیت‌های آن. از لحاظ اجرایی پرهزینه و سخت بودن، تولید قابل توجه لجن، درگیر بودن روش‌های پیچیده در انجام آن و ایجاد آلودگی‌های ثانویه [۲۱-۱۹].

در چند دهه اخیر حذف آلاینده‌ها از جمله رنگزاها با استفاده از روش‌های زیستی بسیار مورد توجه همگان قرار گرفته است [۱۵]. استفاده از تکنیک‌هایی که برپایه حضور یک ارگانیسم زنده در مقابل آلودگی باشد جزء تحقیقات کلیدی در شاخه علوم‌محیطی است [۸]. در این روش درمانی از میکروارگانیسم‌ها برای تجزیه آلاینده استفاده می‌شود. میکروارگانیسم‌هایی که با سموم موجود در آلاینده موردنظر سازگاری پیدا کرده و ایجاد سویه‌های مقاومی را می‌کند که قادر به تبدیل سموم شیمیایی به مواد کمتر مضر و سمی است.

1- Basic dyes
2- Acid dyes
3- Direct dyes
4- Mordant dyes
5- Azoic dyes
6- Sulphur dyes
7- Vat dyes
8- Dicperse dyes
9- Reactive dyes
10- Mauveine

www.SID.ir

Archive of SID

میکروارگانیسم‌های زیادی از جمله باکتری‌ها[1]، قارچ‌ها[2] و جلبک‌ها[3] و برای این روش مورد استفاده قرار می‌گیرند [۸، ۲۵]. این میکروارگانیسم‌ها با استفاده از سیستم‌های مختلفی که در آن‌ها وجود دارد برای مقاصد گوناگون ازجمله تجزیه رنگزاها براساس نوع و کیفیت پساب رنگی در این روش درمانی به کار می‌روند [۱۵، ۲۵، ۲۶].

روش‌های تیمار زیستی به دلیل ارزان‌قیمت بودن، دوست‌دار محیط‌زیست بودن، دائمی و آسان بودن، موثر بودن و تولید لجن بسیار کم، برای پاکسازی فاضلاب‌های حاوی مواد رنگی مورد استفاده قرار می‌گیرند([۱۵، ۲۲]. رنگ‌زدایی میکروبی[4] می‌تواند به صورت جذب زیستی[5]، تجزیه زیستی[6] و یا ترکیبی از دو روش فوق باشد [۱۵، ۲۲-۲۴].

رنگ‌زدایی میکروبی می‌تواند به صورت جذب زیستی، تجزیه زیستی و یا ترکیبی از دو روش فوق باشد [۱۰-۹]. در روش جذب زیستی از بیومس قارچ رشته‌ای، باکتری، جلبک و مخمر برای حذف رنگزاها از محیط استفاده می‌شود. ظرفیت جذب زیستی میکروارگانیسم‌ها بر روی لیپید و هتروپلی‌ساکارید دیواره سلولی‌شان توزیع شده است که شامل گروه‌های متفاوتی شامل آمین، کربوکسیل، فسفات و گروه‌های دیگر می‌باشد که باعث ایجاد پیوند قوی بین رنگزا و دیواره سلولی می‌شود [۱۳-۱۱]. چند فرآیند پیش تعمیری وجود دارد که ظرفیت جذب زیستی بیومس را ارتقاء می‌دهد، مانند اتوکلاو. دما باعث شکسته‌شدن سلول و افزایش ناحیه سطحی آن می‌شود [۱۵، ۱۴]. تیمار با اسید، فرمالدئید، NaOH، NaHCO و CaCl نیز باعث تغییر ناحیه سطحی میکروارگانیسم و افزایش یا کاهش ظرفیت باندهای ایجاد شده می‌شود [۱۷، ۱۶، ۱۴، ۲۰]. سلول غیرزنده نسبت به سلول زنده در جذب زیستی دارای مزیت است چراکه سلول‌های غیرزنده نیاز به غذا ندارند و قابلیت انباشتگی و استفاده طولانی مدت دارند [۱۰-۸]. علاوه بر این ظرفیت تاثیر جذب زیستی تحت تاثیر عواملی مانند pH، دما، قدرت یونی، زمان ترکیب، غلظت جاذب و رنگزا، ساختار رنگزا و نوع میکروارگانیسم نیز می‌باشد.

در تجزیه زیستی رنگزاها آنزیم‌ها دخیل‌اند، یعنی میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در فرآیند تجزیه زیستی رنگزاها با تولید آنزیم‌های ویژه‌ای که بر روی گروه‌های عاملی و پیوندهای اصلی موجود در هر رنگزا اثر می‌گذارد باعث شکستن این گروه‌ها و پیوندها شده و درنتیجه رنگزا به ترکیبات ساده و معدنی تبدیل می‌شود. هر میکروارگانیسم با سازوکاری که مختص به خود است فرآیند تجزیه زیستی رنگزاها را انجام می‌دهد، مثلاً سازوکار تجزیه زیستی رنگزا از سوی یک قارچ با سازوکار تجزیه زیستی رنگزا از سوی یک باکتری متفاوت است. درکل آنزیم‌هایی که در روش تجزیه زیستی و حذف آلودگی آلاینده رنگی از محل آلوده موثرند می‌توانند شامل آنزیم‌های اکسیدوردوکتاز نظیر: فنولوکسیداز (لاکاز)، منگنزپروکسیداز، لیگنین پروکسیداز و غیره باشند. تجزیه زیستی رنگزاها هم در شرایط هوازی و هم در شرایط بی‌هوازی قابل انجام است، ولی نتایج به‌دست آمده شرایط بی‌هوازی را بر هوازی ترجیح می‌دهد. در شرایط هوازی آنزیم‌های مونوکسیژناز و دی‌اکسیژناز هستند که اتصال اکسیژن به حلقه‌های آروماتیک ترکیبات آلی رنگی را کاتالیز می‌کنند [۲۴-۱۵].

باکتری *اسینتوباکتر لووفی* از جنس *اسینتوباکتر* از جمله باکتری‌های گرم منفی قوی در زمینه پالایش و حذف آلاینده‌ها در محیط زیست می‌باشد. در این پژوهش از باکتری *اسینتوباکتر لووفلی* که به‌صورت فریزشده بود به آزمایشگاه منتقل و درون محیط‌کشت نوترین‌آگار به‌صورت خطی کشت داده شد. این باکتری یک ساپروفیت فرصت طلب بیمارستانی می‌باشد. نمونه کشت داده شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شد تا کشت تازه‌ای از باکتری را داشته باشیم، آنگاه از این باکتری برای رنگ‌زدایی ایندیگوکارمین به صورت بدون هم‌زدن (بی‌هوازی) استفاده گردید. چون باکتری بی‌هوازی اختیاری می‌باشد.

۲ـ بخش تجربی

۲ـ۱ـ مقاوم‌سازی باکتری به ماده رنگزا ایندیگوکارمین

از آنجایی که باکتری انتخاب شده فقط در معرض آلاینده نفتی قرار گرفته و در معرض رنگی قرار نداشته است فرآیند مقاوم‌سازی باکتری به رنگزا ایندیگوکارمین انجام گرفت. بدین‌منظور مقداری محیط کشت نوترینت آگار ساخته شده و قبل از ریختن محیط درون صفحه مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر از رنگزا ایندیگوکارمین وزن کرده و به محیط اضافه گردید. بعد از سفت‌شدن محیط در شرایط کاملا ضدعفونی شده باکتری به صورت خطی بر روی محیط کشت داده شد. صفحات به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری گردید. بعد از گذشت ۲۴ ساعت کلنی‌های مقاوم رشد یافته بر روی محیط کشت حاوی رنگزا ایندیگوکارمین برای انجام دیگر مراحل آزمایش جدا گردید.

۲ـ۲ـ مطالعه اثر pH و زمان بر تجزیه رنگزا ایندیگوکارمین از سوی باکتری اسینتوباکتر لووفی

با استفاده ازpH متر دیجیتالی مدل ۷۸۰ ساخت کشور سوئیس و افزودن اسید کلریدریک و هیدروکسید سدیم به محیط‌های کشت

1- Bacteria
2- Fungus
3- Algaes
4- Biodecolorization
5- Biosorption
6- Biodegradation

www.SID.ir

Archive of SID

ساخته شده pHهای ۶ تا ۱۰ آماده گردید. در ادامه باکتری در محیط‌ها کشت داده شد و بعد از گذشت ۲۴ ساعت میزان ۵۰ میلی‌گرم برلیتر از رنگزا ایندیگوکارمین به آنها اضافه گردید و در ادامه وضعیت بهینه تجزیه زیستی توسط *اسینتوباکتر لووفی* مورد بررسی قرار گرفت، بدین‌گونه که بعد از به دست آوردن pH بهینه که برابر ۹ بود در تمامی آزمایشات بعدی pH همواره بر روی ۹ تنظیم شد. در رابطه با تاثیر زمان بر تجزیه زیستی رنگزا ایندیگوکارمین از محیط‌ها در فواصل زمانی صفر تا ۷۲ ساعت نمونه‌برداری انجام گرفت. بدین صورت که در هر بازه زمانی (۰، ۶، ۲۴، ۳۰، ۴۸،۵۴، ۶۶ و ۷۲ ساعت) مقدار ۴ میلی‌لیتر از نمونه برداشته شده و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰rpm سانتریفیوژ گردید فاز جامد از فاز مایع جدا شده و جذب نوری محلول رویی به دست آمده از سانتریفیوژ با استفاده از دستگاه طیف‌سنج تک طول موج (مدل ۳۰۰۰CECIL) در طول موج ۶۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و در انتها با استفاده از فرمول آورده شده در قسمت ۲-۴-میزان درصد رنگ‌زدایی از رنگزا ایندیگوکارمین تعیین گردید.

۲ـ۳ـ مطالعه اثر غلظت و دما بر تجزیه ماده رنگزا ایندیگوکارمین از سوی باکتری *اسینتوباکتر لووفی*

به منظور بررسی اثر غلظت رنگزا ایندیگوکارمین در میزان تجزیه آن توسط باکتری موردنظر، غلظت‌های ۲۵۰-۲۵ میلی‌گرم برلیتر از رنگ تهیه شد. میزان رنگزای موجود در محیط بعد از گذشت زمان بهینه به‌دست آمده در pH بهینه با استفاده از دستگاه طیف‌سنج مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی تاثیر دما بر رنگبری از رنگزا ایندیگوکارمین از سوی باکتری نیز، اندازه‌گیری میزان رنگزا باقی‌مانده بعد از گذشت ۵۴ ساعت در دماهای ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵، ۵۰ و۵۵ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. در انتها با استفاده از فرمول آورده شده در قسمت ۲-۴ میزان درصد رنگ‌زدایی از سوی باکتری در هر چهار وضعیت (تغییر در زمان، pH، دما و غلظت رنگزا) مورد محاسبه قرار گرفت. در هنگام بهینه کردن هر یک از چهار عامل مورد بررسی در این پژوهش (دما، غلظت رنگزا، زمان و pH) تنها یکی را متغیر فرض کرده و مابقی را ثابت در نظر می‌گیریم.

۲ـ۴ـ تعیین درصد رنگ‌زدایی با استفاده از دستگاه طیف‌سنج تک طول موج

برای تعیین میزان رنگبری، در حالتی که در محیط باکتری وجود دارد، فاز جامد(شامل سلول باکتری) از فاز مایع نمونه‌های کشت به وسیله سانتریفیوژ با دور ۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه جدا شد. در محلول رویی به دست آمده از سانتریفیوژ غلظت رنگزا باقی‌مانده در طول موج بیشینه (λ_{max}) مربوط به ماده رنگزای ایندیگوکارمین که برابر ۶۱۰ نانومتر است با استفاده از دستگاه طیف‌سنج اندازه‌گیری شد.

درصد رنگ‌زدایی با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید.

$$DE(\%) = \frac{OD_0 - OD_t}{OD_0} \times 100 \quad (1)$$

که در این رابطه DE : توانایی رنگزدایی (درصد)، OD_1: جذب اولیه، OD_t: جذب بعد از گذشت زمان t است.

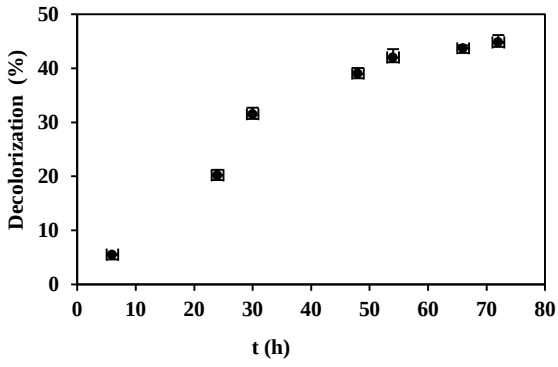
۳ـ نتایج وبحث

۳ـ۱ـ تاثیر زمان بر رنگ‌زدایی ایندیگوکارمین توسط *اسینتوباکتر لووفی*

مشاهده شد که با گذشت زمان از لحظه صفر تا حدود ۵۴ ساعت میزان رنگ‌زدایی ازسوی سیستم به‌طور تصاعدی افزایش می‌یابد. طوری‌که در ۵۴ ساعت میزان رنگ‌زدایی به ۴۲ درصد رسید و از زمان ۵۴ تا ۷۲ ساعت تغییر محسوسی در میزان رنگزدایی مشاهده نشد. پس مشخص گردید که زمان بهینه جهت انجام رنگبری رنگزا ایندگویکارمین از سوی سیستم معادل ۵۴ ساعت می‌باشد. در ادامه سایر بهینه‌سازی‌ها در این زمان اندازه‌گیری شد (شکل۱).

۳ـ۲ـ تاثیر pH بر میزان رنگ‌زدایی ایندیگوکارمین توسط *اسینتوباکتر لووفی*

در بررسی میزان رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط باکتری موردنظر درpHهای مختلف (۱۰، ۹، ۸، ۷، ۶، ۵، ۴، ۳) مشخص شد که با گذشت ۵۴ ساعت و در pH حدود ۹ بیشترین میزان رنگ‌زدایی ازسوی باکتری صورت می‌گیرد که این مقدار نیز برابر۴۲ درصد بود. بنابراین pH حدود ۹ به‌عنوان pH بهینه جهت رنگ‌زدایی ایندیگوکارمین توسط *اسینتوباکتر لووفی* معرفی شد. *اسینتوباکتر لووفی* در pHهای ۳،۴ و ۵ قادر به رشد نبود، لذا این سه pH در محاسبه pH بهینه برای تجزیه رنگزا از سوی باکتری به حساب نیامدند (شکل۲).



شکل ۱: تاثیر زمان بر میزان رنگ‌زدایی ایندیگوکارمین توسط *اسینتوباکتر لووفی* (دما ۳۷ درجه سانتی‌گراد، pH=۹ ، غلظت رنگزا ۵۰ میلی‌گرم‌درلیتر، شرایط بدون هم‌زدن).

www.SID.ir

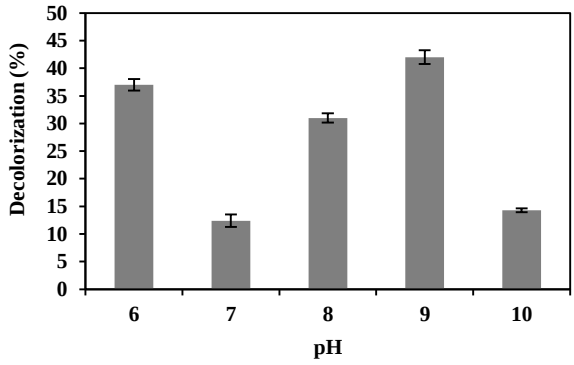
Archive of SID

۳ـ۳ـ تاثیر دما بر میزان رنگ‌زدایی ایندیگوکارمین توسط *اسینتوباکتر لووفی*

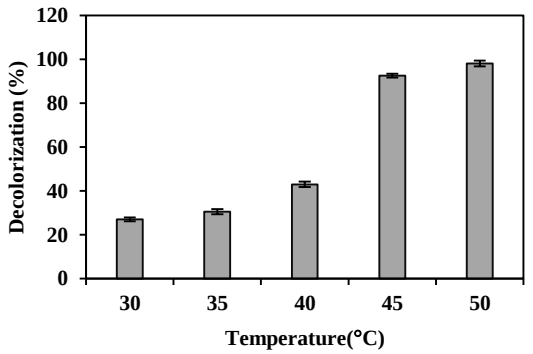
با بررسی تاثیر دماهای مختلف (۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵ و ۵۰) مشخص شد که مناسب‌ترین دما جهت رنگ‌زدایی ایندیگوکارمین از سوی سیستم برابر ۵۰ درجه سانتی‌گراد است. درصد تجزیه رنگزای ایندیگوکارمین در این دما معادل ۹۸,۱ درصد است. همچنین مشخص شد که با افزایش دما از ۳۰ به ۵۰ درجه سانتی‌گراد درصد تجزیه رنگزای ایندیگوکارمین افزایش می‌یابد (شکل۳).

۳ـ۴ـ تاثیر غلظت‌های اولیه مختلف ماده رنگزا بر میزان رنگ‌زدایی ایندیگوکارمین توسط *اسینتوباکتر لووفی*

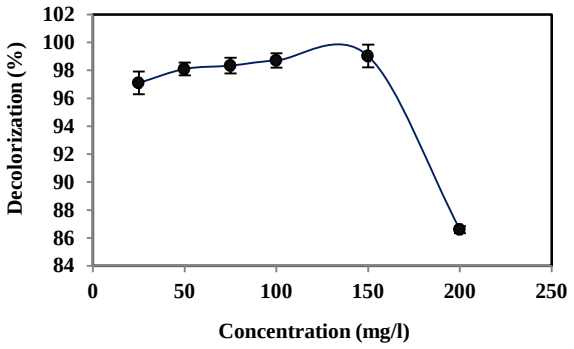
در بررسی میزان رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط سیستم در غلظت‌های مختلف رنگزا برحسب میلی‌گرم در لیتر (۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰) مشخص شد که با افزایش غلظت اولیه رنگزا از ۲۵ تا ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر درصد رنگ‌زدایی افزایش می‌یابد و در ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر حدود ۹۹,۰۲ درصد است، ولی از غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر به بعد درصد رنگ‌زدایی دارای کاهش است (شکل۴).



شکل ۲: تاثیر pH بر میزان رنگ‌زدایی ایندیگوکارمین توسط *اسینتوباکترلووفی* (زمان ۵۴ ساعت، دما ۳۷ درجه سانتی‌گراد، غلظت رنگزا ۵۰ میلی‌گرم در لیتر، شرایط بدون هم‌زدن).



شکل ۳: تاثیر دما بر میزان رنگ‌زدایی ایندیگوکارمین توسط *اسینتوباکترلووفی* (زمان۵۴ ساعت، pH= ۹، غلظت رنگزا ۵۰ میلی‌گرم در لیتر، شرایط بدون هم‌زدن).



شکل ۴: تاثیر غلظت‌های اولیه مختلف از رنگزا بر میزان رنگزدایی ایندیگوکارمین توسط *اسینتوباکتر لووفی* (زمان۵۴ ساعت، pH= ۹، دما ۵۰ درجه سانتی‌گراد، شرایط بدون هم‌زدن).

۴ـ نتیجه‌گیری

پژوهش‌ها نشان داد، فرآیند رنگ‌زدایی میکروبی به صورت‌های جذب زیستی، تجزیه زیستی و یا ترکیبی از هردو می‌باشدکه در این تحقیق تجزیه زیستی از سوی *اسینتوباکتر لووفی* صورت گرفته است. یافته‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که برای سیستم شامل *اسینتوباکترلووفی، محیط کشت و رنگزا ایندیگوکارمین*، زمان ۵۴ ساعت زمان بهینه‌ای است که حداکثر میزان رنگ‌زدایی در آن صورت می‌گیرد. به‌طور کلی در بیشتر پژوهش‌های مربوط به رنگ‌زدایی باکتریایی بسته به نوع باکتری و نوع ماده رنگزا از نظر ساختار شیمیایی، فرآیند رنگبری از ۸ ساعت تا ۵ روز می‌تواند متغیر باشد که این زمان برای قارچها در فرآیند رنگبری بسیار کم بوده و در حدود یک ساعت است. براساس نتایج به‌دست آمده مشخص شد که در تجزیه رنگزای ایندیگوکارمین pH مناسب رنگ‌زدایی از سوی باکتری برابر ۹ است. از آنجایی که ایندیگوکارمین یک رنگزای اسیدی است بهترین pH برای تجزیه این رنگزا، pH اسیدی (۴-۲) است، اما از منظر دیگر باکتری در pH اسیدی شرایط مناسب رشدش نیست، از pH اسیدی صرف‌نظر گردید چراکه باکتری در چنین وضعیتی قادر به زنده ماندن و رشد نیست. مقاسه این تحقیق با نتایج محققین دیگر شان نشان داد شرایط بهینه pH بیشتر مربوط به نوع باکتری می‌باشد به طوری که رنگ‌زدایی رنگزای قرمز کنگو به‌وسیله *باسیلوس پومیلیس* و *باسیلوس سرئوس* بهینه pH در حدود ۶ تا ۷ بوده است. در بررسی تاثیر غلظت رنگزا نتایج به‌دست آمده در این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت رنگزا از ۲۵ به ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر درصد تجزیه افزایش پیدا کرد ولی در ادامه کاهش رنگ‌زدایی مشاهده گردید. هرقدر که غلظت رنگزا بالا می‌رود از آنجایی که منبعی از کربن و انرژی برای باکتری است در نتیجه باکتری در آن شرایط بی‌هوازی سعی می‌کند که از حداکثر منابع کربن استفاده کرده و از محیط کشت خود که حاوی قند و دیگر مواد مغذی است نیز برای رشدش استفاده کند، در

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه محیط کشت از مواد مغذی خود تهی می‌شود. این نتایج با حذف رنگزاهای دیگر به وسیله باکتری‌های *باسیلوس پومیلیس* و *باسیلوس سرئوس* و *باسیلوس تورنژنسیس* و *اسینتو باکتر بومانی* هم‌خوانی دارد. در بررسی تاثیر دما بر میزان رنگ‌زدایی نیز مشخص شد که در دماهای بالا مانند دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد بیشترین درصد رنگ‌زدایی صورت می‌گیرد در صورتی که در این دما باکتری زنده نخواهد بود و تنها بیومس مرده باکتری است که فرآیند تجزیه را در دمای بالا انجام می دهد. از آنجایی که در این دما باکتری *اسینتوباکترلووفی* دیگر زنده نیست و خواهد مرد می‌توان گفت که بیومس مرده باکتری به دلیل متلاشی شدن ساختمان و دیواره‌اش در دمای بالا و در ادامه رهاشدن تمامی آنزیم‌های مقاوم به حرارت تولید شده توسط باکتری در ۵۰ درجه سانتی‌گراد قادر به انجام بیشترین رنگبری از ایندیگوکارمین می‌باشد و در بالاتر از دمای ۵۰ درجه به‌دلیل از بین رفتن و نیز غیرفعال شدن همین آنزیم‌ها و فاکتورهای موثر، کاهش تدریجی در روند تجزیه ماده رنگزا دیده می‌شود.

۵ـ مراجع

1. C. M. Carliell, S. J. Barclay, N. Naidoo, C.A. Buckley, D. A. Mulholland, E. Senior, Microbial decolorization of a reactive azo dye under anaerobic conditions. *Water SA*. 21(1995), 61-69.
2. Y. Fu, T. Viraraghavan, Fungal decolourization of dye wastewater: a review. *Bioresource Technol*. 79(2001), 251-262.
3. A. Ramalho, Degradation of dyes with microorganisms studies with ascomycete yeasts. PhD thesis. University of Minho. Portugal. (2005).
4. N. Dafale, S. Watea, S. Meshram, T. Nandya, Kinetic study approach of Remazol Black- B use for the development of two-stage anoxic-oxic reactor for decolorization/ biodegradation of azo dyes by activated bacterial consortium. *J. Hazard Mater*. 30(2008), 319-328.
5. X. C. Jin, G. Q. Liu, H. XuZ, W. Y. Tao, Decolorization of a dye industry effluent by *Aspergillus fumigates XC6*. *Appl Microbiol Biot*. 74(2007), 239–243.
6. K. Chang Sook, Z. Zulkarnain, A. Abdul Halim, Removal of cationic and anionic dyes by immobilized titanium dioxide loaded activated carbon. *Mal J. Anal. Sci*. 12(2008), 451-457.
7. D. C. Kalyani, P. S. Pati, J. P. Gadhar, S. P. Govindwar, Biodegradation of reactive textile dye Red Bli by an isolate bacterium *Pseudomonas sp SUK1*. *Bioresource Technol*. 99(2008), 4635-4641.
8. S. Asad, M. A. Amoozegar, A. A. Pourbabaee, M. N. Sarbolouki, S. M. M. Dastgheib, Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria. *Bioresource Technol* .98 (2007), 2082-2088.
9. S. Phugare, P. Pati, S. Govindwar, J. Jadhav, Exploitation of yeast biomass generated as a waste product of distillery industry for remediation of textile industry effluent. *Int Biodeter Biodegr*. 64(2010), 716-726.
10. Y. Wu, T. Li, L. Yang, Mechanisms of removing pollutants from aqueous solutions by microorganisms and their aggregates: A review. *Bioresource Technol*. 107(2012), 10-18.
11. S. Sumathi, V. Phatak, Fungal treatment of bagasse based pulp and paper mill wastes. *Environ. Technol*. 20(1999), 93-98.
12. V. Vitor, C. R. Corso, Decolorization of textile dye by *Candida albicans* isolated from industrial effluents. *J. Indian Microb Biotechnol*. 35(2008), 1353-1357.
13. A. Srinivasan, T. Viraraghavan, Decolorization of dye wastewaters by biosorbents: a review. *J. Environ. Manage*. 91(2010), 1915- 1929.
14. J. Lin, X. Zhang, Z. Li, L. Lei, Biodegradation of Reactive Blue 13 in a two-stage anaerobic/aerobic fluidized beds system with a *Pseudomonas sp*. Isolate. *Bioresource Technol*. 101(2010), 34-40.
15. M. Solis, A. Solis, H. I. Perezb, N. Manjarrezb, M. Floresa, Microbial decolouration of azo dyes: A review. *Process Biochem*. 47(2012), 1723-1748.
16. S. T. Ambrosio, J. C. Vilar Junior, C. A. A. Da Silva, K. Okada, A. E. Nascimento, R. L. Longo, A biosorption isotherm model for the removal of reactive azo dyes by inactivated mycelia of *Cunninghamella elegans* UCP542. *Molecules*. 17(2012), 452-462.
17. K. Vijayaraghavan, Y. S. Yun, Utilization of fermentation waste (*Corynebacterium glutamicum*) for biosorption of Reactive Black 5 from aqueous solution. *J Hazard. Mater*. 141(2007), 45-52.
18. E. Erden, Y. Kaymaz, N. K. Pazarlioglu, Biosorption kinetics of a direct azo dye Sirius Blue K-CFN by *Trametes versicolor*. *Electron J. Biotechnol*. 14(2011), 1-10.
19. A. Altaf, S. Noor, Q. M. Sharif, M. Najeebullah, Different techniques recently used for the treatment of textile dyeing effluents: a review. *J. Chem. Soc. Pak*. 32(2010), 115-116.
20. P. Verma, D. Madamwar, Decolorization of synthetic dyes by a newly isolated strain of *Serratia marcescens*. *World J Microb. Biot*. 19(2003), 615-618
21. M. Ramya, B. Anusha, S. Kalavathy, Decolorization and biodegradation of indigocarmine by a textile soil isolate *Paenibacillus Larvae*. *Biodegrad*. 19(2008), 283-291.
22. N. Srivam, D. Srivam, P. Saranraj, Biological degradation of reactive dyes by using bacterial isolated from dye effluent contaminated soil. *J. Sci. Res*. 17(2013), 1695-1700.
23. H. Mittal, N. Ballav, B. Shivani Mishra, Gum ghatti and Fe_3O_4 magnetic nanoparticles based nanocomposites for the effective adsorption of methylene blue from aqueous solution. *J. Ind. Eng. Chem*. 20(2014), 2184-2192.
24. A. Paraneeiswaran, S. K. Shukla, T. Prashanth, T.Sabba Rao, Microbial reduction of [Co (III)–EDTA] − by *Bacillus licheniformis* SPB-2 strain isolated from a solar salt pan. *J Hazard Mater*. 283(2015), 582-590.
25. R. Ansar, H. Fallah Moafi, N, Nemati, A. Fallah Dealvar. Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles and Its Nanocomposite for Dye Removal. *J. Color Sci. Tech*. 17(2016), 273-286.
26. S. Borhani, H. Khalili, N. Sohankar, F. Foroozmehr. Dye Removal From Reactive Dye Wastewater Using β–cyclodextrin Functionalized Polyacrylonitrile Nanofibers. *J. Color Sci. Tech*. 8(2014), 193-201.

www.SID.ir