

بررسی حذف رنگ Reactive Black 5 به وسیله باکتری های نمک دوست و تحمل کننده

نمک جدا شده از پساب کارخانه های نساجی

سید محمدرضا نجاتی، عباس فرازمند*، مهرداد آذین

پژوهشکده زیست فناوری، سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: تصفیه پساب کارخانه های نساجی به دلیل وجود املاح و رنگ های مختلف در آن، از گذشته مورد توجه و بررسی بوده است. در این بررسی تلاش شد تا با کمک باکتری های نمک دوست و تحمل کننده نمک جدا شده از پساب واقعی، از یک پساب ساختگی، فرآیند رنگبری صورت پذیرد.

مواد و روش ها: ابتدا از پساب نمونه گیری شده یک کارخانه نساجی واقع در کاشان، در محیط های TSB دارا و بدون نمک، غنی سازی صورت گرفت. سویه های جدا و خالص شده از لحاظ توان رشد و حذف رنگ، در محیط های کشت ساختگی رنگبری مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: کنسرسیوم سه سویه باکتریایی برتر جدا شده، از توان رنگبری در محدوده وسیعی از غلظت نمک (تا ده درصد)، غلظت رنگ (تا ۱۰۰۰ ppm)، دما (۳۰ تا ۳۸ درجه سانتی گراد) و pH (۵/۵ تا ۸/۵) برخوردار بود.

بحث: می توان از کنسرسیوم باکتریایی در شرایط محیطی متفاوت، برای رنگبری از پساب حاوی رنگ های آزو استفاده کرد. که این روش تصفیه، مقرون به صرفه و مناسب برای حفظ محیط زیست می باشد.

نتیجه گیری: استفاده از پساب کارخانه های نساجی برای جدا سازی سویه های بومی که تحمل کننده شرایط واقعی خود پساب، نظیر املاح و رنگ های مختلف و همچنین دارای توانایی حذف رنگ در شرایط محیطی محل نمونه گیری هستند، مؤثر و کارآمد است.

واژه های کلیدی: باکتری های نمک دوست و تحمل کننده نمک، رنگ های آزو، رنگ 5 Reactive Black، پساب نساجی، حذف زیستی

مقدمه

خاصی پیدا کرده است. کارخانه های متعدد نساجی از بزرگترین مصرف کنندگان آب هستند، به همین جهت مقدار متناهی پساب نیز در این صنعت به وجود می آید (۲۱). پساب کارخانه های نساجی حاوی مواد شیمیایی مختلف از جمله رنگ ها، فلزات سنگین، دترجنت ها، املاح، آنیون ها نظیر کلرور، سولفور، سولفید و همچنین مواد معلق زیاد هست (۱۲). رنگ های سنتتیک در صنایع نساجی، کاغذ، عکاسی، مواد غذایی، مواد آرایشی و بهداشتی، دارویی، چاپ، پلاستیک و چرم استفاده می شوند (۱۳، ۲۳). صنعت نساجی مصرف کننده دو سوم از کل رنگ های سنتتیک تولیدی در جهان است. که حدود ۲۰-۱۰٪ از کل این رنگ ها، در طول فرآیندهای رنگ کاری به دلیل عدم کارایی در فرآیندهای رنگریزی، در پساب های نساجی رها می شود (۲۶). رنگ های آزو

رشد فزاینده جمعیت و از سوی دیگر گسترش صنعت و کشاورزی سبب کمبود آب سالم در جهان شده است. در نتیجه ضرورت تصفیه و بازیابی مجدد آب های مصرفی اهمیت

نویسنده مسئول:

پژوهشکده زیست فناوری، سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

پست الکترونیکی: farazmand2002@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۱/۱۷

تجزیه زیستی آلوده کننده ها در اکوسیستم های طبیعی توسط عامل های مختلف محیطی مانند: دما، pH، اکسیژن و غیره تحت تأثیر قرار می گیرد. بنابراین استفاده از میکروارگانیسم های بومی در این زمینه می تواند بسیار مؤثر باشد. در این پژوهش، جداسازی و شناسایی سویه های بومی نمک دوست و تحمل کننده نمک موجود در سیستم یک تصفیه خانه پساب کارخانه نساجی در کاشان که توانایی رنگ-بری از یکی از سخت تخریب پذیرترین رنگ های مورد استفاده در نساجی، یعنی رنگ Reactive Black 5 را دارد، صورت پذیرفت. همچنین اثر چند عامل مختلف بر میزان رنگ بری این سویه ها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

نمونه گیری و انتقال نمونه ها به آزمایشگاه:

نمونه گیری از پساب خروجی دستگاه های مختلف و پساب نهایی و پساب بخش های مختلف سیستم تصفیه خانه یک کارخانه نساجی واقع در شهر کاشان و انتقال نمونه ها به آزمایشگاه طبق استاندارد شماره ۲۴۴۰ موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران انجام شد (۱۴).

جداسازی سویه های نمک دوست و تحمل کننده نمک:

همه نمونه ها به منظور جدا سازی سویه های نمک دوست و تحمل پذیر نمک غربالگری شد. به این صورت که پنج میلی لیتر از نمونه پساب به ۵۰ میلی لیتر از محیط TSB^۶ بدون نمک و TSB با پنج درصد نمک (در یک لیتر از آب مقطر: $MgSO_4$ ، ۴/۸ گرم و $MgCl_2$ ، ۳/۵ گرم و KCl، ۱ گرم و NaCl، ۴۰/۵ گرم) در ارلن های ۲۵۰ میلی لیتر افزوده شد. pH نمونه ها با HCl یا NaOH یک نرمال روی ۷/۴ تنظیم و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد روی شیکر با دور ۱۵۰ rpm گرم خانه گذاری شد. پس از یک هفته از ارلن های فوق روی پلیت های TSA^۷ بدون نمک و TSA با پنج درصد نمک کشت داده شد (۲). تمامی محیط های کشت و نمک های مصرف شده از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

همچنین از رقت های ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۱ و ۰/۰۰۰۰۱ تهیه شده از پساب بر روی پلیت های TSA بدون نمک و دارای پنج درصد نمک کشت و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرماگذاری شد.

به دلیل قابلیت تجزیه پذیری کم و استفاده گسترده، سبب تأثیرهایی بر فرآیندهای متداول تصفیه پساب صنایع نساجی در چند دهه اخیر شده است. ورود این گونه رنگ ها در قالب پساب به محیط زیست نه تنها ایجاد منظره ناخوشایند می کند بلکه تأثیرهای زیادی روی آب های جاری و حتی روی آب های زیرزمینی دارد. کاهش کیفیت آب، عدم نفوذ نور به لایه های زیرین آب، اثر بر حلالیت گازها، آسیب زدن به آبزیان و ... از جمله عوامل تهدید کننده محیط زیست است (۹،۱۱). روش های متعدد فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی به منظور رنگ بری از پساب های نساجی به کار می روند که در راندمان، هزینه های اقتصادی و اثرهای زیست محیطی متفاوت می باشند (۸). استفاده از میکروارگانیسم ها و روش های زیستی رنگ زدایی، به دلیل تنوع ژنتیکی و متابولیکی، کم هزینه بودن، ساده و کارآمدتر بودن، عدم آسیب رسانی به طبیعت و تولید مقدار کم مواد دفعی گزینه های مناسب برای تصفیه آلاینده ها از جمله رنگ های آزو می باشند (۳). رنگ بری از پساب های نساجی از اوایل دهه ۸۰ آغاز شده است. قدمت به کارگیری میکروارگانیسم ها در تیمار و بهبود وضعیت پساب های شهری به زمان های قدیم بازمی گردد. در تحقیق های مشابهی تاکنون از بسیاری از میکروارگانیسم ها مانند انواع باکتری های گرم مثبت و منفی، باکتری های هوازی، بی هوازی اختیاری و اجباری، برخی مخمرها و قارچ ها و جلبک ها و اکتینومیست ها در راستای حذف بیولوژیک ترکیب های رنگی آزو از پساب نساجی، استفاده شده است. تجزیه رنگ ها توسط باکتری های مختلف از جمله پروتئوس میرابیلیس^۱، سویه های سودوموناس^۲، اکتینوباسیلوس سوکسینوژنس^۳، سودوموناس لوتئولا^۴ و مایکوباکتریوم اویوم^۵ گزارش شده است (۲،۳،۹).

پساب بسیاری از کارخانه های نساجی ایران به دلیل قرارگیری در موقعیت های جغرافیایی شور، در زمین های شور و کویری رها می شود، از طرفی چون در مرحله ای از رنگرزی برای بالا بردن کارایی از نمک های محلول نیز استفاده می شود، بنابراین استفاده از باکتری های نمک دوست و تحمل پذیر نمک انتخاب خوبی برای تصفیه این گونه پساب ها بشمار می آیند؛ زیرا این باکتری ها، تحمل پذیری بالایی به شرایط سخت محیطی مانند وجود مقدار بالای نمک و مواد آلاینده مانند فلزهای سنگین و اکسی آنیون ها را از خود نشان می دهند (۲).

1. Proteus mirabilis
2. Pseudomonas spp
3. Actinobacillus succinogenes
4. Pseudomonas luteola
5. Mycobacterium avium

6. Tryptic Soy Broth

7. Tryptic Soy Agar

موجود در ظرف نمونه، شرایط Anoxic درون ظروف محتوی نمونه حاکم گشت.

۳. حالت هوادهی-Anoxic: ظروف نمونه ابتدا روی شیکر با دور ۱۵۰rpm گرم خانه گذاری شد و سپس به انکوباتور ثابت منتقل شد.

سنجش فعالیت رنگ زدایی:

برای بررسی میزان رنگ و کدورت آن در محیط، ابتدا طیف جذبی رنگ در محدوده ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (-WPA: Biochrom WPA 80 Model Biowave II 3003-75) که به کمک هوا صفر شده بود، تعیین شد. بدین ترتیب بیشینه طول موج جذبی^۱ رنگ مشخص گشت. که برای Reactive Black 5 برابر با $\lambda_{max} = 600 \text{ nm}$ بود. از محیط های کشت گرماگذاری شده در زمان مورد نظر (زمان های مختلف از بعد از تلقیح باکتری، برای بررسی میزان رنگ بری مورد بررسی قرار گرفت) یک میلی لیتر نمونه با دور ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. بعد از رسوب توده باکتریایی، از مایع رویی درون کووت ریخته شد و میزان جذب رنگ در بیشینه طول موج جذبی آن اندازه گیری و درصد رنگ بری نیز مطابق فرمول زیر محاسبه گشت:

$$D (\%) = (A - A_0) / A_0 \times 100$$

(جذب در محیط، پس از رنگ بری = A، جذب محیط شاهد

$$D = \text{رنگی} = A_0, \text{ درصد رنگ بری} = D)$$

بررسی برخی از ویژگی های فیزیولوژیک و توان رشد سویه های برتر در شرایط مختلف محیطی:

میزان رشد باکتری ها، از طریق تراکم نوری (OD) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Biowave II) در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه گیری شد (۲۴). رنگ آمیزی گرم بر اساس روش Burke انجام شد (۱۹). هم چنین این رنگ آمیزی و نتیجه آن با استفاده از KOH سه درصد تأیید شد (۷).

تحمل نمک سدیم کلراید در حضور تراکم صفر تا ۱۵ درصد (W/W) در محیط نوترینت براث مورد سنجش قرار گرفت.

انتخاب دمای ۳۷ درجه به دلیل شرایط موجود در تصفیه خانه به خصوص واحد لجن فعال که به طور میانگین دارای دمای ۳۷ درجه می باشد، بود.

غربالگری سویه ها بر اساس توان رنگ بری:

در این مرحله برای شناسایی سویه های دارای قدرت رنگ بری و انتخاب سویه های برتر از لحاظ میزان و سرعت رنگ بری، هر یک از سویه های جدا سازی و خالص شده به ارلن های کشت حاوی ۵۰ میلی لیتر از محیط کشت رنگ بری (حاوی یک درصد گلوکز، ۰/۵ درصد عصاره مخمر، پنج درصد نمک و ۵۰ ppm رنگ) یک درصد مایه تلقیح (از کدورت ۰/۵ مک فارلند باکتری) افزوده و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شد. از میان رنگ های مورد استفاده در این کارخانه، یکی از سخت تجزیه پذیرترین آن ها یعنی رنگ Remazol Black B انتخاب شد و به همراه گلوکز، جدا از محیط کشت فوق سترون و به محیط ها افزوده شد.

از میان ۲۰ سویه جدا و خالص سازی شده، سه سویه توان رشد و رنگ بری مطلوب در محیط کشت ساخته شده از رنگ Reactive Black 5 را پس از مدت سه روز دارا بودند. هم چنین این سویه ها از نظر موارد زیر نیز مورد بررسی قرار گرفتند:

۱. بررسی رنگ بری در pH های مختلف.
۲. توانایی رنگ بری در غلظت های مختلف رنگ.
۳. توانایی رنگ بری در غلظت های مختلف نمک.
۴. بررسی توانایی باکتری های جدا شده برای استفاده از رنگ به عنوان منبع کربن.
۵. توانایی حذف رنگ توسط کنسرسیومی از سه سویه برتر. تمامی آزمایش های فوق با سه تکرار در شرایط پایه دمای ۳۷ درجه و $\text{pH} = 7/4$ و غلظت ۵۰ ppm رنگ و پنج درصد نمک انجام شد و محیط های حاوی رنگ و بدون رنگ تلقیح نشده به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفتند. هم چنین برای بررسی میزان رنگ بری نمونه ها، هر ۲۴ ساعت یکبار از آن ها نمونه گرفته شد.

به دلیل عملکرد مناسب سه سویه برتر، کنسرسیومی از این سه سویه باکتریایی تهیه شد.

انواع روش های هوادهی:

۱. حالت هوادهی: ظروف نمونه فقط روی شیکر با دور ۱۵۰rpm گرم خانه گذاری شد.
۲. حالت ایستا: ظروف نمونه به طور مستقیم به انکوباتور ثابت منتقل شد و در نتیجه بعد از اتمام اکسیژن اندک

موجود در پساب که بیش تر آن‌ها دارای رشد سریع و توانایی تحمل و رشد در پنج درصد نمک موجود در محیط کشت را دارا بودند، جدا سازی شدند. با استفاده از روش کشت مستقیم نمونه پساب و رقت‌های آن بر روی محیط کشت TSA دارای پنج درصد نمک، تعداد سه سویه از سویه‌های کند رشد موجود در پساب نیز جدا سازی شد. این روش بر این اساس انتخاب شد که سویه‌های کند رشد در محیط‌های کشت غنی‌سازی مایع، که به سرعت توسط سویه‌های دارای رشد سریع اشباع می‌شوند، مجال رشد کافی را پیدا نمی‌کنند. در این روش احتمال رشد و جدا سازی سویه‌های کند رشد ایجاد گردید. در پایان مرحله جدا سازی، از ۲۰ سویه جدا شده، کشت خالص تهیه و نگهداری شد. در مرحله غربال‌گری انتخاب سویه‌های برتر بر اساس میزان و سرعت رنگ‌بری و هم‌چنین نوع مکانیسم رنگ‌بری سویه‌های جدا شده، صورت گرفت. از بین ۲۰ سویه جدا شده، سه سویه SN7، SN11، SN20 بهترین توان رنگ‌بری را از خود نشان دادند. که به ترتیب $85/7 \pm 0/8$ ، $76/4 \pm 0/4$ و $82/5 \pm 0/6$ درصد حذف رنگ را در مدت سه روز از خود نشان دادند. میانگین و انحراف معیار تمامی تکرارها محاسبه و گزارش شد و هیچ سطح معناداری از تفاوت داده‌های تکرار شده مشخص نگردید. هم‌چنین موارد گفته شده برای تأیید برتر بودن سه سویه بالا انجام گرفت که مشخص شد هر سه سویه توان رشد در محدوده وسیعی از pH، دما و غلظت‌های مختلف نمک و رنگ یعنی pHهای ۵/۵ تا ۸/۵، دماهای ۳۰ تا ۳۸ درجه سانتی‌گراد، مقادیر درصد نمک ۲ تا ۱۰ (w/v) و غلظت‌های مختلف از رنگ Remazol Black B از ۵۰ تا ۱۰۰۰ ppm را دارا می‌باشند. هم‌چنین توانایی استفاده از رنگ به‌عنوان منبع کربن نیز با حذف گلوکز از محیط کشت رنگ‌بری انجام گرفت. در نتیجه تنها ماده‌ای که در این حالت در محیط می‌توانست به‌عنوان منبع کربن مورد استفاده باکتری قرار گیرد، رنگ بود. که هر سه سویه توان استفاده از رنگ به‌عنوان منبع کربن را نیز داشتند. در مقایسه رنگ‌بری کنسرسیوم تشکیل شده از سه سویه برتر با رنگ‌بری هر سویه، مشخص شد که توان رنگ‌بری کنسرسیوم از حالات تک‌سویه بیش تر است. بنابراین کنسرسیومی از این سه سویه باکتریایی تهیه شد؛ که این

رشد در دماهای مختلف در محیط نوترینت براث با پنج درصد نمک سدیم کلراید در دماهای ۳۰، ۳۳، ۳۶، ۳۹، ۴۲ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت.

محدوده pH برای رشد با تنظیم pH نهایی محیط با HCl و NaOH یک نرمال بین ۳ تا ۱۴ در محیط نوترینت براث بررسی گشت.

عملکرد کنسرسیوم باکتریایی از لحاظ نوع هوادهی و زمان کافی و مناسب جهت رنگ‌بری مطلوب نیز مورد بررسی قرار گرفت.

بررسی مکانیسم رنگ‌بری سویه‌های برتر:

میکروارگانسیم‌های مختلف در مقابل رنگ‌هایی با ساختار یکسان روش‌های متفاوتی را برای شکست ساختار رنگ به کار می‌گیرند. به‌منظور مشخص کردن مکانیسم رنگ‌بری از دو روش بررسی طیف UV-Vis و مشاهده ظاهری توده سلولی استفاده شد. در این بررسی اولین گام مقایسه طیف UV-Vis محیط کشت رنگ‌بری، قبل و بعد از رنگ‌بری است که برای این کار محیط رنگ‌بری، قبل و بعد از رنگ‌بری توسط باکتری با دور ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد و سپس طیف UV-Vis محلول رویی حاصل از سانتریفوژ در محدوده ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (WPA: Biochrom WPA 80-3003-75 Model Biowave II) رسم و مقایسه شدند. هم‌چنین مشاهده ظاهری توده رشد باکتری در محیط دارای رنگ و بدون رنگ نیز مورد مشاهده قرار گرفت.

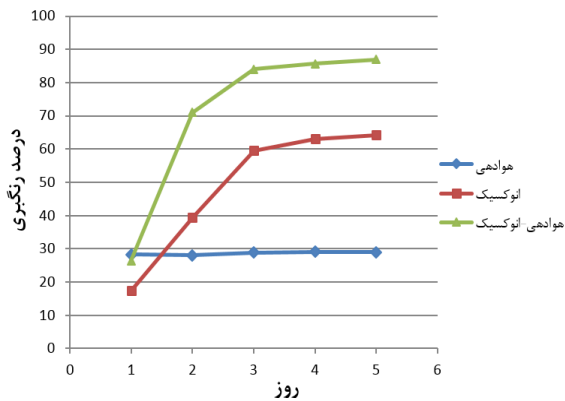
تعیین فعال یا غیرفعال بودن رنگ‌بری توسط سویه‌های برتر:

ابتدا کشت مایع محیط کشت رنگ‌بری شده توسط باکتری ورتکس شد تا مخلوط یکنواختی از کدورت باکتریایی به دست آید. سپس این کشت به دو قسمت تقسیم گردید. یک قسمت اتوکلاو شد تا فعالیت متابولیسمی باکتری‌ها از بین برود و قسمت دیگر هم‌چنان حاوی سلول‌های زنده باقی ماند. هر دو نوع نمونه با دور ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. مایع رویی و رسوب حاصل از هر یک از نمونه‌ها تحت تأثیر یک میلی‌لیتر از ۱۰ ppm رنگ قرار گرفتند. نتایج تا ۲۴ ساعت پس از این کار بررسی شدند.

نتایج و بحث

در روش غنی‌سازی نمونه پساب در محیط کشت TSB دارای پنج درصد نمک و سپس کشت گسترده بر روی پلیت‌های TSA دارای پنج درصد نمک، تعداد ۱۷ سویه از باکتری‌های

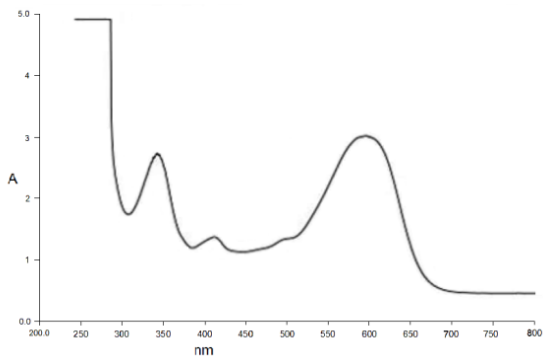
که با اکسیژن محیط بر سر گرفتن الکترون از حاملان الکترونی مانند NADH رقابت می کند (۲۶).
بر اساس گزارشها رنگبری توسط باکتریها ممکن است در



شکل ۲- اثر انواع هوآدهی بر میزان رنگبری کنسرسیوم

اثر جذب سطحی و یا تجزیه زیستی باشد. در جذب سطحی، بررسی طیف UV-Vis نشان دهنده کاهش ارتفاع تمام پیکها به یک نسبت است اما اگر رنگبری در اثر تجزیه زیستی حاصل شده باشد، پیک موجود در ناحیه مرئی حذف و یا پیک جدیدی اضافه می شود (۱۰). جذب سطحی هم چنین با مشاهده توده سلولی قابل تشخیص است که در این صورت توده سلولی شدید رنگی می شود ولی در تجزیه زیستی این گونه نیست (۵).

در بررسی مقایسه طیف UV-Vis محیط کشت رنگبری، طیف UV-Vis محلول رویی حاصل از سانتریفوژ در محدوده ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (WPA: Biochrom WPA 80-3003-75 Model Biowave II) برای محیط کشت رنگبری، قبل و بعد از رنگبری به صورت زیر رسم شد (شکل ۳ و ۴).



شکل ۳- طیف UV-Vis محیط کشت رنگبری، قبل از رنگبری

کنسرسیوم توان رشد و رنگبری تا ۹۲ درصد (±۰/۵) در محیط کشت ساخته شده از رنگ Reactive Black 5 را در شرایط پایه یادشده، در مدت سه روز دارا بود (شکل ۱).

در بررسی رنگ آمیزی گرم سویه های برتر مشخص شد که دو سویه کوکوباسیل گرم منفی و یک سویه باسیل گرم مثبت اسپوردار می باشد.



شکل ۱- محیط رنگبری شده توسط کنسرسیوم (در سمت چپ) در کنار محیط شاهد (سمت راست)

نتایج حاصل از رسم منحنی رشد هر سه سویه حاکی از آن بود که هر سه سویه بعد از گذشت مدت زمان ۲۴ ساعت به حداکثر میزان رشد یعنی به پایان فاز لگاریتمی خود می رسند و این بدان معناست که می توانند بهترین عملکرد را پس از گذشت این مدت زمان داشته باشند. این مدت زمان در حالت های مختلف هوآدهی به خصوص حالت هوآدهی-Anoxic برای عملکرد مناسب رنگبری سویه ها در نظر گرفته شد.

در بررسی حالات مختلف هوآدهی (شکل ۲): رنگبری مطلوبی از هیچ یک از سویه ها در حالت هوآدهی روی شیکر حاصل نشد (مانند اکثر گزارش هایی که تاکنون شده است) (۱۷، ۲۳). در حالت ایستا به دلیل رشد کم سویه ها ولی وجود شرایط مناسب برای فعالیت آنزیماتیک مناسب در راستای حذف رنگ، رنگبری به نسبت مطلوبی حاصل شد. اما در حالت هوآدهی-Anoxic به دلیل رشد مناسب سویه ها در مرحله هوآدهی و سپس عملکرد بهینه آنها در حالت Anoxic، رنگبری بسیار مطلوبی حاصل شد. رنگبری در باکتریها از پایه یک فعالیت آنزیمی است که تحت شرایط بی هوازی انجام می شود و این به دلیل پیوند شدید الکترون کشنده آزو است

باکتری‌های نمک‌دوست و تحمل‌پذیر نمک است که انتخاب خوبی برای تصفیه این‌گونه پساب‌ها به شمار می‌آیند؛ زیرا این باکتری‌ها، تحمل‌پذیری بالایی به شرایط سخت محیطی مانند وجود مقدار بالای نمک و مواد آلاینده مانند فلزات سنگین و اکسی‌آنیون‌ها را از خود نشان می‌دهند.

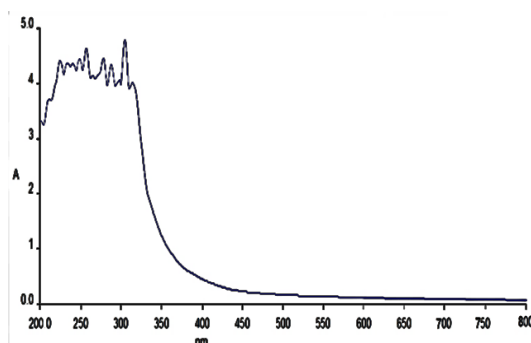
P. A. Joshi و همکارانش در سال ۲۰۱۵ در تجزیه بیولوژیکی رنگ با استفاده از کنسرسیومی متشکل از باکتری‌های جدا شده از پساب نساجی دریافتند که کنسرسیومی از باکتری سودوموناس و اکتینوباکترها توانایی رنگ‌بری از پساب نساجی را تا ۹۶ درصد دارا هستند (۱۵). در این پژوهش نیز مشخص گردید که توانایی رنگ‌بری کنسرسیوم باکتریایی از حالات تک‌سویه بیش‌تر است.

Franciscon Elisangela و همکارانش در سال ۲۰۰۹ توسط سویه ای از استافیلوکوک توانستند تا ۸۵ درصد رنگ-بری را از پساب نساجی انجام دهند. آنها با ایجاد سیستم هوازی - آنوکسیک، ابتدا به توده باکتریایی مورد نظر رسیده و سپس آن را وارد حالت آنوکسیک کردند. تا در این شرایط بهترین عملکرد آنزیماتیک برای حذف رنگ را ایجاد کنند (۶). نتایج بررسی آنها با نتایج این تحقیق در بررسی انجام گرفته در رابطه با انواع حالات هوادهی در راستای رنگ‌بری مطلوب نیز منطبق می‌باشد.

O.P. Abioye و همکارانش در سال ۲۰۱۵ با استفاده از استافیلوکوکوس در محیط متیل رد توانستند به رنگ‌بری ۵۰ تا ۶۲ درصد از این رنگ، در مدت ۱۲ روز دست یابند (۱). در این بررسی نیز رنگ‌بری کنسرسیوم باکتریایی برتر از رنگ آزوی مورد بررسی، به میزان ۹۲ درصد، پس از گذشت سه روز حاصل گردید.

Sharma Shilpa و همکارانش در سال ۲۰۱۵ با استفاده از یک سویه ی اندوفیت جدید توانستند در دمای ۳۴ درجه به ۸۴ درصد رنگ‌بری دست پیدا کنند. آنها برای منبع ازت خود به جای عصاره مخمر از عصاره گوشت استفاده کردند (۲۱). ولی در این پژوهش از عصاره مخمر به‌عنوان منبع ازت محیط-کشت استفاده گردید.

Jaabir و همکاران در سال ۲۰۱۳ دریافتند که از تصفیه ی فاضلاب می‌توان به عنوان یک روش مؤثر در استفاده ی مجدد از فاضلاب صنعتی، بخاطر وجود عناصری مثل N. P برای مقاصد آبیاری کشاورزی استفاده نمود. آنها بر این باور بودند که می‌توان از پساب تصفیه شده برای مقاصد دیگر به جز صنعت



شکل ۴- طیف UV-Vis محیط کشت رنگ‌بری، بعد از رنگ‌بری

همان‌طور که از نمودارهای رسم شده مشخص است، در طول موج ۶۰۰ nm در محیط کشت رنگ‌بری، قبل از انجام پروسه رنگ‌بری، بیشینه جذب وجود داشته است. که این مقدار جذب در محیط کشت رنگ‌بری بعد از رنگ‌بری توسط هر سه سویه و در نتیجه کنسرسیوم آن‌ها، دیگر وجود ندارد. این موضوع حاکی از حذف رنگ توسط هر سه سویه از محیط کشت رنگ‌بری است.

هم‌چنین مشاهده ظاهری توده رشد باکتری در محیط رنگ‌دار و بدون رنگ نیز به‌صورت چشمی انجام شد. که توده باکتریایی هر سه سویه در محیط کشت رنگ‌بری پس از انجام رنگ‌بری، به طور کامل بدون رنگ جذب‌شده و به‌صورت یکنواخت سفید یا شیری‌رنگ بود. یعنی هیچ آثاری از نشست رنگ روی سطح سلول دیده نشد.

در تعیین فعال یا غیرفعال بودن رنگ‌بری توسط سویه‌های برتر، نتایج بدین گونه بود که توده باکتریایی اتوکلاو شده و مایع رویی آن بعد از سانتریفوژ و هم‌چنین مایع رویی حاصل از سانتریفوژ توده باکتریایی زنده، هیچ‌کدام توانایی رنگ‌بری نداشتند و تنها توده زنده باکتریایی دارای قدرت رنگ‌بری بود. مشاهده این‌که تنها توده سلولی زنده باکتری‌ها قادر به رنگ-بری هستند، دلیلی دیگر بر این واقعیت است که رنگ‌بری توسط باکتری‌های مورد بررسی به‌صورت فعال انجام می‌شود و در اثر جذب سطحی که به طور معمول به‌صورت غیرفعال است نمی‌باشد. در بسیاری از میکروارگانیسم‌ها، مکانیسم رنگ‌بری، جذب سطحی است. هم‌چنین این فعالیت آنزیمی توسط یک آنزیم ترشحی انجام نمی‌شود. زیرا در این صورت مایع رویی نیز باید توانایی رنگ‌بری می‌داشت (۱۶).

Julie Bornot و همکارانش در سال ۲۰۱۵ با استفاده از دینوکوکوس جنوثرمالیس توانست از پساب، تا ۶۸ درصد رنگ‌بری را انجام دهد. این باکتری جزء میکروارگانیسم‌های

استفاده کرد که باور درستی بود. آن‌ها توانستند که پس از بررسی‌های فراوان به این موضوع برسند که ارگانیس‌م‌ها همانند باکتری‌ها می‌توانند علاوه بر رشد و رنگ‌بری در پساب، آن را برای مقاصد هم‌چون کشاورزی آماده سازند (۱۸). در پایان این بررسی نیز پیشنهادهای بالا برای مطالعه و بررسی بیشتر، جهت استفاده مجدد از پساب تصفیه شده ارائه گشت.

نتیجه گیری

در نهایت می‌توان گفت استفاده از پساب کارخانه‌های نساجی برای جدا سازی سویه‌های بومی که تحمل کننده شرایط واقعی خود پساب نظیر وجود املاح و رنگ‌های مختلف و هم-چنین دارای توانایی حذف رنگ هستند، بسیار کمک کننده است. که به کمک آن‌ها می‌توان در شرایط محیطی متفاوت مانند دما، pH، غلظت نمک و غلظت رنگ و... طیف وسیعی از رنگ‌های آزو موجود در پساب را رنگ‌بری کرد. تا بدین ترتیب بتوان بخشی از آب از دست رفته را حداقل در بخش‌های صنعتی و برخی مصارف کشاورزی و حفظ فضاهای سبز و... دوباره مورد استفاده قرارداد.

سپاسگزاری

از ریاست محترم پژوهشکده زیست‌فناوری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران جناب آقای دکتر میردامادی و تمامی کارکنان این پژوهشکده که شرایط لازم برای انجام این پروژه را محیا و ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Abioye, O. P., V. T. Iroegu and S. A. Aransiola (2015). "Biodegradation of Methyl Red by *Staphylococcus aureus* Isolated from Waste Dump Site." ESTHAG 8(3): 131.
2. Asad S ,Amoozegar MA, Pourbabae AA, Sarbolouki MN, Dastgheib SMM. Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria. BIRTEB.2007;98(11):2082-8 .(full text in Persian)
3. Banat IM, Nigam P, Singh D, Marchant R. Microbial decolorization of textile-dyecontaining effluents: a review. BIRTEB. 1996;58(3):217-27 .
4. Bornot, J., C. Molina-Jouve, J.-L. Uribelarrea and N. Gorret (2015). "Quantitative Characterization of the Growth of *Deinococcus geothermalis* DSM-11302: Effect of Inoculum Size, Growth Medium and Culture Conditions." MICRKN 3(3): 441-463.
5. Chen, K.-C., J.-Y. Wu, D.-J. Liou and S.-C. J. Hwang (2003). "Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains." JBTD4 .101(1): 57-68.
6. Elisangela F, Andrea Z, Fabio DG, de Menezes Cristiano R, Regina DL, Artur C-P. Biodegradation of textile azo dyes by a facultative *Staphylococcus arlettae* strain VN-11 using a sequential microaerophilic/aerobic process. IBBIES 2009;63(3):280-8
7. Finegold, S. M., D. M. Citron, E. J. Baron and E. J. Goldstein (1990). "Short prerduced anaerobically sterilized (PRAS) biochemical scheme for identification of clinical isolates of bile-resistant *Bacteroides* species." JCMIDW 28(10): 2220-2223.
8. Forgacs E, Cserhati T, Oros G. Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. IJSET. 2004.
9. Frijters C, Vos RH, Scheffer G, Mulder R. Decolorizing and detoxifying textile wastewater, containing both soluble and insoluble dyes, in a full scale combined anaerobic/aerobic system. WATRAG. 2006;40(6):1249-57.
10. Fu-Xin, H., W. Yi-Qun, G. Dong-Hong and G. Fu-Xi (2003). "Spectroscopy and optical properties of novel metal (II)-azo complex films in blue-violet light region." PYLAAG .20(12): 2259.
11. Golka K, Kopps S, Myslak ZW. Carcinogenicity of azo colorants: influence of solubility and bioavailability. TOLED5.
12. Groff, K. A. (1993). "Textile waste." WAERED: 421-423.
13. Gupta VK. Application of low-cost adsorbents for dye removal—A review. JEVMAW.
14. Iranian National Standards Organization. (2015). "Iranian National Standards Organization." Retrieved august 2015, from <http://www.isiri.org/portal/files/std/2440.htm>.
15. Joshi, P. A., S. Jaybhaye and K. Mhatre (2015). "Biodegradation of dyes using consortium of bacterial strains isolated from textile effluent." EJEBAU 5(7): 36-40.
16. Kaur, B., B. Kumar, N. Garg and N. Kaur (2015). "Statistical Optimization of Conditions for Decolorization of Synthetic Dyes by *Cordyceps militaris* MTCC 3936 Using RSM." BRIIDT 2015 .
17. Khehra, M. S., H. S. Saini, D. K. Sharma, B. S. Chadha and S. S. Chimni (2006). "Biodegradation of azo dye CI Acid Red 88 by an anoxic-aerobic sequential bioreactor." DYPIDX 70(1): 1-7
18. Kumar, S. S. and M. Jaabir (2013). "Biological treatment of textile wastewater and its re-use in irrigation: Encouraging water efficiency and sustainable development." JWROA8 2(5): 133-140.
19. Murray, R. G. E., R. N. Doetsch and C. F. Robinow (1994). "Determinative and cytological light microscopy." Methods for general and molecular bacteriology 1: 22-41.
20. Rubin E, Rodriguez P, Herrero R, Cremades J, Barbara I, de Vicente S, et al. Removal of methylene blue from aqueous solutions using as biosorbent *Sargassum muticum*: an invasive macroalga in Europe. JCTBD. 2005.
21. Shilpa, S. and R. Shikha . "Biodegradation of Dye Reactive Black-5 by a Novel Bacterial Endophyte." IRJEAS . Vol. 4(4), 44-53, April (2015)

22. Srinivasan A, Viraraghavan T. Decolorization of dye wastewaters by biosorbents: a review. JEVMAW.
23. Supaka, N., K. Juntongjin, S. Damronglerd, M.-L. Delia and P. Strehaiano (2004). "Microbial decolorization of reactive azo dyes in a sequential anaerobic-aerobic system." CMEJAJ. 99(2): 169-176.
24. Widdel, F. (2007). "Theory and measurement of bacterial growth." Di dalam Grundpraktikum Mikrobiologie 4: 1-11.
25. Zee F. Anaerobic azo dye reduction: Ph. D. thesis. Wageningen University, Wageningen-Netherlands; DENHAAG 2002
26. Zimmermann, T., H. G. Kulla and T. Leisinger (1982). "Properties of purified orange II azoreductase, the enzyme initiating azo dye degradation by Pseudomonas KF 46." EJBCAI .129(1): 197-203.

Archive of SID