Modares Journal of Biotechnology. 2018;9(1):111-116

Identification of Moderated Halophile Yeast *Sarocladium* sp. as Biosorption of Azo Dye from Wastewater Containing Synthetic Dye

ARTICLE INFO

Article Type
Original Research

Authors
Nouri H.[1] *MSc*,
Kamyabi A.[1] *MSc*,
Moghimi H.* *PhD*

How to cite this article
Nouri H, Kamyabi A, Moghimi H. Identification of Moderated Halophile Yeast *Sarocladium* sp. as Biosorption of Azo Dye from Wastewater Containing Synthetic Dye. Modares Journal of Biotechnology. 2018;9(1):111-116.

*Microbial Biotechnology Department, Microbial Biotechnology Faculty, University of Tehran, Tehran, Iran
[1]Microbial Biotechnology Department, Microbial Biotechnology Faculty, University of Tehran, Tehran, Iran

Correspondence
Address: Microbial Biotechnology Department, Microbial Biotechnology Faculty, University of Tehran, Tehran, Iran
Phone: +98 (21) 66415495
Fax: +98 (21) 66415081
hmoghimi@ut.ac.ir

Article History
Received: May 23, 2016
Accepted: January 26, 2017
ePublished: March 20, 2018

ABSTRACT

Aims The aim of the present study was to isolate yeasts with the high ability of decolorization to use as biosorption in removing azo dyes.

Materials & Methods In this experimental study, an enrichment method was used to isolate dye absorbent yeast in a salt medium. The dye absorption was performed with comparing wet and dried biomass. Decolorization level was evaluated in different concentrations of dye and salt. By molecular method, the best strain was identified and its ability to absorb various dyes as well as mono-, di-, and tri-azo dyes were investigated. Statistical tests including one way ANOVA and Tukey as well as SPSS 19 software were used.

Findings Among 17 yeast isolates, ADH17 was selected as the most capable isolate. This isolate was 100% similar to *Sarocladium* sp. Dried biomass could adsorb the dye 4 times more than the wet biomass. The remained dye increased when initial dye concentration rose, but different concentrations of sodium chloride had no significant effect in biosorption. This strain could adsorb a broad range of azo dyes, including mono-, di-, and tri- azo and acidic, basic, and reactive dyes as well. The highest biosorption was 97.43% for reactive red and the lowest biosorption was 87.96% for reactive yellow.

Conclusion The ADH17 is the most capable isolate and it is 100% similar to *Sarocladium* sp. This strain adsorbs a broad range of azo dyes, including mono-, di-, and tri- azo and acidic, basic, and reactive dyes as well. *Sarocladium* sp has a high ability to absorb various azo dyes.

Keywords Azo Dyes; Biosorption; Sarocladium sp.

CITATION LINKS

[1] Marin-Morales MA, Machado KM, Gusmão NB. Biotreatment of textile effluent in static bioreactor by Curvularia lunata URM 6179 and Phanerochaete chrysosporium URM 6181 [2] Aerobic decolorization and degradation of azo dyes by suspended growing cells and immobilized cells of a newly isolated yeast Magnusiomyces ingens LH-F1 [3] Treatment of azo dye-containing synthetic textile dye effluent using sulfidogenic anaerobic baffled reactor [4] Biodegradation of the diazo dye Reactive Black 5 by a wild isolate of Candida oleophila [5] Characterization of a new oxygen-insensitive azoreductase from Brevibacillus laterosporus TISTR1911: Toward dye decolorization using a packed-bed metal affinity reactor [6] Effective bioremoval of reactive dye and heavy metals by Aspergillus versicolor [7] Comparative study of toxicity of azo dye Procion Red MX-5B following biosorption and biodegradation treatments with the fungi Aspergillus niger and Aspergillus terreus [8] Decolorization of azo dyes by Phanerochaete chrysosporium and Pleurotus sajorcaju [9] The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells: A review [10] Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: Perspectives for anaerobic biotechnology [11] Screening and identification of yeasts for decolorizing synthetic dyes in industrial wastewater [12] Dye-decolorizing activity in isolated yeasts from the ecoregion of Las Yungas (Tucumán, Argentina) [13] Biodecolorization of textile azo dyes by isolated yeast from activated sludge: Issatchenkia orientalis JKS6 [14] Biodegradation of azo dyes by the yeast Candida zeylanoides in batch aerated cultures [15] Improved conditions for the aerobic reductive decolourisation of azo dyes by Candida zeylanoides [16] Decolorization of an azo dye, Reactive Black 5 and MnP production by yeast isolate: Debaryomyces polymorphus [17] Characterization of azo reduction activity in a novel ascomycete yeast strain [18] Decolourization of azo dye methyl red by Saccharomyces cerevisiae MTCC 463 [19] Biodegradation of Methyl red by Galactomyces geotrichum MTCC 1360 [20] Decolorization of textile dye by Candida albicans isolated from industrial effluents [21] Decolorization of Alizarin Red and other synthetic dyes by a recombinant laccase from Pichia pastoris [22] Biosorption of an azo dye by Aspergillus niger and Trichoderma sp. fungal biomasses [23] Mycoremediation of synthetic: An insight into the mechanism, process optimization and reactor design [24] Decolorization of remazol black-b by halomonas sp. PTCC1417 isolated from Urmia lake: Optimization by taguchi methodology

Copyright© 2018, TMU Press. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.

www.SID.ir

شناسایی مخمر نمک‌دوست نسبی جنس ساروکلادیوم به‌عنوان جاذب زیستی رنگ‌های آزو از پساب‌های حاوی رنگ‌های سنتزی

هدی نوری MSc
گروه بیوتکنولوژی میکروبی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
عالیه کامیابی MSc
گروه بیوتکنولوژی میکروبی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
حمید مقیمی* PhD
گروه بیوتکنولوژی میکروبی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده
اهداف: هدف پژوهش حاضر جداسازی مخمرهایی با توانایی بالای رنگ‌بری به‌منظور استفاده به‌عنوان جاذب زیستی در حذف رنگ‌های آزو بود.
مواد و روش‌ها: در پژوهش تجربی حاضر به‌منظور جداسازی مخمرهای جاذب رنگ در محیط نمکی از روش غنی‌سازی استفاده شد. میزان جذب رنگ با مقایسه زیست‌توده تر و خشک صورت پذیرفت. میزان رنگ‌بری در غلظت‌های مختلف رنگ و نمک مورد ارزیابی قرار گرفت. با روش مولکولی سویه برتر شناسایی و توانایی آن در جذب رنگ‌های مختلف و همچنین رنگ‌های مونو، دی و تری‌آزو بررسی شد. آزمون‌های آماری شامل آنالیز واریانس یک‌طرفه، توکی و نرم‌افزار SPSS 19 استفاده شدند.
یافته‌ها: از بین ۱۷ جدایه مخمری، جدایه ADH17 به‌عنوان توانمندترین جدایه انتخاب شد، این جدایه ۱۰۰% با جنس ساروکلادیوم (.Sarocladium sp) مشابهت داشت. جذب رنگ زیست‌توده خشک چهار برابر زیست‌توده تر بود. میزان رنگ باقیمانده با افزایش غلظت رنگ افزایش یافت، ولی غلظت‌های مختلف سدیم‌کلرید تاثیر قابل توجهی در جذب رنگ نداشت. این سویه رنگ‌های مونو، دی و تری‌آزو و همچنین رنگ‌های اسیدی، بازی و راکتیو را جذب کرد. بیشترین جذب با میزان ۹۷٪/۴۳ مربوط به راکتیو رد و کمترین جذب با میزان ۸۷/۹۶% به راکتیو یلو مربوط بود.
نتیجه‌گیری: جدایه ADH17 توانمندترین جدایه است و به میزان ۱۰۰% با جنس ساروکلادیوم مشابهت دارد. این سویه رنگ‌های مونو، دی و تری‌آزو و همچنین رنگ‌های اسیدی، بازی و راکتیو را جذب می‌کند. جنس ساروکلادیوم دارای توانایی بالایی در جذب ترکیب رنگ‌های آزوی مختلف است.
کلیدواژه‌ها: رنگ‌های آزو، جذب زیستی، .Sarocladium sp

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۰۷
*نویسنده مسئول: hmoghimi@ut.ac.ir

مقدمه

امروزه توجه و نگرانی زیادی در ارتباط با رهایی پساب‌های مختلف از جمله پساب‌های حاوی رنگ‌های سنتزی در محیط زیست وجود دارد[1, 2]. با توجه به مشکلات زیست‌محیطی که در ارتباط با رنگ‌ها و محصولات حاصل از شکست آنها وجود دارد، تخلیه این پساب‌ها به محیط زیست مشکلات عدیده‌ای را به وجود خواهد آورد[2, 3]. بین رنگ‌های سنتزی تجاری، رنگ‌های آزو با سهم ۷۰% از بازار جهانی رنگ‌های شیمیایی، بزرگترین گروه را به خود اختصاص داده‌اند. این گروه رنگی با حضور حداقل یک پیوند آزو که دو حلقه آروماتیک را به هم متصل می‌کند، شناخته می‌شوند[2, 4, 5]. ترکیبات آزو به‌صورت گسترده در صنایع مختلف از جمله کاغذسازی، چاپ، آرایشی و غذایی و به‌طور ویژه نساجی به کار می‌روند[6]. مطالعات مختلف نشان داده است که بیشتر رنگ‌های آزو سمی و سرطان‌زا هستند و آلودگی‌های حاصل از آنها علاوه بر ایجاد چهره نامناسب برای محیط زیست، موجب تولید متابولیت‌های سمی مانند آمین‌های آروماتیک و بنزیدین‌ها در اثر تجزیه رنگ می‌شود[7, 8]. بنابراین تصفیه پساب‌های تولیدی نساجی قبل از تخلیه به محیط، ضروری است. از جمله روش‌های حذف این رنگ‌ها از پساب‌های تولیدی صنایع نساجی می‌توان به روش‌های فیزیکی، شیمیایی و روش‌های زیستی اشاره کرد. روش‌های فیزیکی و شیمیایی معایبی نسبت به روش‌های حذف زیستی دارند که از آن جمله می‌توان به هزینه بالای تجهیزات و تولید مقادیر زیادی لجن اشاره کرد. این موارد موجب شده که روش‌های زیستی حذف رنگ از پساب‌های نساجی به‌علت هزینه‌های پایین نسبت به سایر روش‌ها مناسب‌تر باشند. تجزیه زیستی و جذب زیستی دو راهکار اصلی در حذف زیستی رنگ‌ها محسوب می‌شوند[8, 9]. از آنجایی که پساب‌های صنایع نساجی می‌تواند حاوی ۴ تا ۱۰% نمک باشند، بنابراین جداسازی و دستیابی به جدایه‌های توانمند در رشد در این غلظت‌های نمک لازم و ضروری است. استفاده از میکروارگانیزم‌ها به‌عنوان راهکار مناسب در پاکسازی زیستی پساب‌های رنگی مورد توجه دانشمندان قرار گرفته است. در این راستا در بسیاری از مطالعات انجام‌شده روی تجزیه زیستی رنگ‌های آزو توجه ویژه‌ای به باکتری‌ها شده و از آنها به‌طور گسترده‌ای برای رنگ‌بری رنگ‌های آزو استفاده شده است[9, 10].

گزارش‌های بسیاری نیز به توانایی رنگ‌بری قارچ‌ها اشاره دارد که عموماً به سیستم آنزیمی لیگنولیتیک آنها مرتبط است. حالت غیراختصاصی این آنزیم‌ها به آنها این امکان را می‌دهد که گستره وسیعی از آلاینده‌های پایدار محیطی از جمله رنگ‌ها را معدنی کنند[11-13]. ضرورت رشد در pH پایین برای فعالیت آنزیمی بهینه و همچنین نیاز به رطوبت بالا، به‌علاوه رشد رشته‌ای و کند قارچ‌ها در مقایسه با میکروارگانیزم‌های تک سلولی، موجب شده که استفاده از قارچ‌های رشته‌ای برای کاربرد در مقیاس بزرگ با محدودیت همراه باشد[11, 13]. در مقایسه با باکتری‌ها و قارچ‌های رشته‌ای، مخمرها خصوصیات جالب توجهی را نشان می‌دهند. رشد مخمرها از قارچ‌های رشته‌ای سریع‌تر است و مانند قارچ‌ها به محیط‌های نامناسب و شرایط سخت مقاوم هستند[11-13]. قابلیت رنگ‌بری زیستی گونه‌های مخمری به‌ویژه آسکومیست در مطالعات مختلف گزارش شده است. از مهمترین مخمرهای مورد استفاده در این زمینه می‌توان *کاندیدا زیلانوئید* (*Candida zeylanoides*) [14, 15]، *کاندیدا تروپیکالیس* (*Candida tropicalis*)، *دباریومایسس پلی‌مورفوس* (*Debaryomyces polymorphus*) [16]، *ایساتچنکیا اوسیدنتالیس* (*Issatchenkia occidentalis*) [17]، *کاندیدا اولئوفیلا* (*Candida oleophila*) [4]، *ساکارومایسس سرویزیه* (*Saccharomyces cerevisiae*) [18]، *گالاکتومایسس جیئوتریچوم* (*Galactomyces geotrichum*) [19]، *کاندیدا آلبیکنس* (*Candida albicans*) [20]، *مگنوسیومایسس اینجنس* (*Magnusiomyces ingens*) [2]، *ایساتچنکیا اورینتالیس* (*Issatchenkia orientalis*) [13] و *پیکیا پاستوریس* (*Pichia pastoris*) [21] نام برد.

پژوهش حاضر با هدف غربالگری و جداسازی مخمرهایی با توانایی بالای رنگ‌بری به‌منظور استفاده به‌عنوان جاذب زیستی توانمند در حذف رنگ‌های آزو انجام شد.

مواد و روش‌ها

در پژوهش تجربی حاضر به‌منظور جداسازی مخمرهای جاذب رنگ در محیط نمکی از روش غنی‌سازی استفاده شد. بدین‌منظور از محیط کشت حاوی ترکیباتی شامل ۱۰گرم در لیتر گلوکز، ۰/۳۴گرم در لیتر عصاره مخمر، ۰/۱۳۴گرم در لیتر مونوپتاسیم‌فسفات

Archive of SID
www.SID.ir

(KH_2PO_4)، ۰/۲۳۴گرم در لیتر دی‌پتاسیم‌فسفات (K_2HPO_4)، ۰/۰۸۴گرم در لیتر منیزیم‌کلرید. ۶ آبه، ۰/۸۴گرم در لیتر آمونیوم‌کلرید در یک‌لیتر آب مقطر دیونیزه استفاده و pH محیط کشت در ۶±۰/۲ تنظیم شد. نمونه‌های خاک جمع‌آوری‌شده از ۱۵ ناحیه مختلف در ایران، به میزان ۰/۱گرم به‌مدت یک هفته در محیط کشت مایع به همراه ۱۰۰میلی‌گرم بر لیتر رنگ ریمازول‌بلک و ۲٪/۵ سدیم‌کلرید و ۱۰۰میلی‌گرم بر لیتر تتراسایکلین در شیکر انکوباتور با دمای ۲۸°C و دور ۱۵۰ دور در دقیقه، گرماگذاری شد. بعد از مشاهده رنگ‌بری در فلاسک، یک‌میلی‌لیتر از محیط رنگ‌بری‌شده به فلاسک حاوی محیط کشت رنگی منتقل و این کار سه مرتبه تکرار شد و در نهایت ۱۰۰میکرولیتر از محیط غنی‌شده روی محیط کشت حاوی تتراسایکلین و ۲٪/۵ سدیم‌کلرید به‌صورت گسترده کشت داده شد و به‌مدت یک هفته در انکوباتور به‌منظور گرماگذاری قرار گرفت. پس از رشد مخمرها در پلیت‌های کشت‌شده، جدایه‌های حاصل روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار (PDA) خالص‌سازی شدند.

انتخاب جدایه با بیشترین میزان جذب رنگ: به‌منظور انتخاب جدایه برتر از میان جدایه‌های مخمری خالص‌سازی‌شده، توانایی آنها از لحاظ میزان حذف رنگ از محیط بررسی شد. بر این اساس، هر یک از جدایه‌های خالص‌سازی‌شده در محیط کشت مایع حاوی ۱۰۰میلی‌گرم بر لیتر رنگ ریمازول‌بلک و ۲٪/۵ سدیم‌کلرید کشت داده شدند و برای یک روز در شیکر انکوباتور با دور ۱۵۰ دور در دقیقه و دمای ۲۸°C گرماگذاری شد. پس از این مدت نمونه‌ها با دور ۴۰۰۰ برای ۵دقیقه سانتریفوژ شده و جذب سوپرناتانت با استفاده از روش اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰نانومتر مورد خوانش قرار گرفت.

شناسایی ایزوله منتخب: به‌منظور شناسایی مولکولی، ابتدا جدایه منتخب در محیط گلوکز- پپتون- عصاره مخمر (GPY) به‌مدت ۲۴ساعت در دمای ۲۸°C گرماگذاری شد. توده زیستی با سانتریفیوژ ۱۰میلی‌لیتر از کشت در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵دقیقه جدا و بعد از دو بار شست‌وشو با سرم فیزیولوژی در هاون ریخته شد. در ادامه با شکستن فیزیکی با روش کوبیدن زیست‌توده منجمدشده با استفاده از ازت مایع، سلول‌ها شکسته شدند. با روش فنل- کلروفرم DNA مخمر استخراج و با الکل رسوب داده شد. برای تایید حضور DNA، الکتروفورز افقی با ژل آگاروز ۱% صورت گرفت. سپس تکثیر ژن LSU به‌وسیله واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) با استفاده از پرایمرهای عمومی NL1 و NL4 انجام شد. مخلوط واکنش PCR حاوی ۲میکرولیتر DNA به‌عنوان الگو، یک‌میکرولیتر از هر کدام از پرایمرها (۱۰پیکومول)، ۱۲/۵میکرولیتر مسترمیکس آنزیم Taq DNA پلی‌مراز و ۸/۵میکرولیتر آب دوبار تقطیر بود. محصول PCR برای تعیین توالی به شرکت بیونیر کره ارسال شد. برای شناسایی و بررسی نزدیک‌ترین سویه از لحاظ توالی ژن LSU به سویه منتخب، از انطباق توالی به‌دست‌آمده با اطلاعات توالی‌های موجود در پایگاه داده CBS و GeneBank استفاده شد.

مقایسه توانمندی زیست‌توده تر و خشک در جذب رنگ: برای مقایسه توانایی جذب رنگ توسط زیست‌توده تر و خشک، جدایه منتخب در غلظت ۲۰۰میلی‌گرم بر لیتر رنگ بررسی شد. به‌منظور تهیه زیست‌توده خشک، زیست‌توده تر پس از اتوکلاو به‌مدت ۷۲ساعت در فور با دمای ۵۰°C قرار گرفت و بعد از طی این مدت زمان ۰/۰۵گرم زیست‌توده خشک و ۰/۵گرم زیست‌توده تر (معادل مقدار لازم برای تهیه زیست‌توده خشک) در محلول آب حاوی ۲۰۰میلی‌گرم بر لیتر ریمازول‌بلک اضافه و به‌مدت یک‌ساعت به انکوباتور با دور ۱۵۰ دور در دقیقه و دمای ۲۸°C منتقل شد. سپس محتویات ارلن‌ها برای ۵دقیقه با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و جذب سوپرناتانت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰نانومتر بررسی شد. در نهایت میزان جذب رنگ زیست‌توده خشک و تر با هم مقایسه شدند.

بررسی توانایی سویه برتر در جذب رنگ‌های مختلف: به‌منظور بررسی توانمندی جدایه منتخب در جذب رنگ‌های آزو مختلف، شش رنگ اسیدبلو، ریمازول‌بلک، راکتیو بلو، راکتیو رد، راکتیو یلو و دایرکت‌بلو بررسی شدند. برای این منظور ۲۰۰میلی‌گرم بر لیتر هر یک از رنگ‌ها در ارلن‌های ۵۰میلی‌لیتری آماده شد و با ۰/۰۵گرم زیست‌توده خشک جدایه منتخب به‌منظور گرماگذاری به‌مدت ۵ساعت در انکوباتور شیکردار با دور ۱۵۰ دور در دقیقه و دمای۲۸°C قرار گرفت. پس از این مدت محتویات ارلن‌ها با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۵دقیقه سانتریفوژ و جذب سوپرناتانت هر یک از رنگ‌ها با گرفتن طیف جذبی بین ۲۰۰ تا ۸۰۰نانومتر و پیداکردن حداکثر میزان طول موج جذبی خوانده شد.

سنجش میزان رنگ‌بری جدایه منتخب در غلظت‌های مختلف رنگ: برای بررسی توانمندی جدایه در جذب غلظت‌های مختلف رنگ، غلظت‌های۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰میلی‌گرم بر لیتر رنگ تهیه و میزان ۰/۰۵گرم زیست‌توده خشک در هر کدام از فلاسک‌های حاوی ۱۰میلی‌لیتر محیط رنگی افزوده و فلاسک‌ها برای یک‌ساعت به شیکر انکوباتور با دور ۱۵۰ دور در دقیقه و دمای ۲۸°C منتقل شدند. پس از سانتریفوژ، جذب سوپرناتانت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف سدیم‌کلرید بر میزان جذب زیستی رنگ: آزمایش‌های این مرحله به‌منظور بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف نمک صورت گرفت. بدین‌منظور غلظت‌های صفر، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰٪ سدیم‌کلرید در محیط کشت حاوی ۲۰۰میلی‌گرم بر لیتر رنگ اضافه شد. سپس نمونه‌ها برای یک‌ساعت در انکوباتور شیکردار با دور ۱۵۰ دور در دقیقه در ۲۸°C گرماگذاری و پس از سانتریفوژ، جذب سوپرناتانت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰نانومتر خوانده شد.

بررسی توانایی جدایه مخمری در جذب ترکیبی از رنگ‌های آزو مختلف: به‌منظور بررسی توانایی سویه در جذب رنگ‌های مونو، دی و تری‌آزو به‌صورت همزمان و شبیه‌سازی شرایط ترکیب رنگ موجود در پساب‌ها، ۰/۰۵گرم از زیست‌توده خشک سویه منتخب در ارلن حاوی ۲۰۰میلی‌گرم در لیتر از ترکیب یکسان رنگ‌های مونوآزوی (اسیدبلو)، دی‌آزوی (ریمازول‌بلک) و تری‌آزوی (دایرکت‌بلو) کشت داده شد. سپس نمونه‌ها به‌منظور گرماگذاری به‌مدت یک‌ساعت در انکوباتور شیکردار با دور ۱۵۰ دور در دقیقه در ۲۸°C قرار گرفتند و پس از سانتریفوژ، طیف اسپکتروم جذبی سوپرناتانت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد.

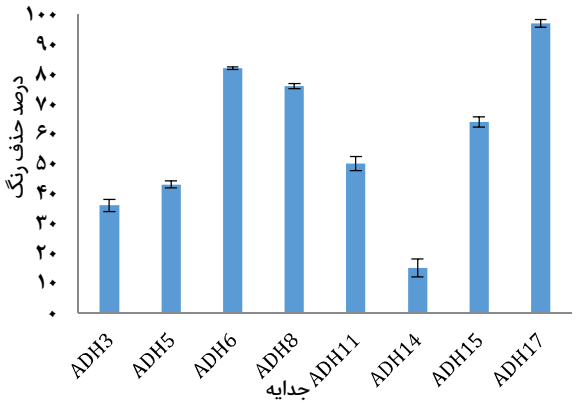
از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه، توکی با ضریب اطمینان ۹۵% و نرم‌افزار SPSS 19 استفاده شد.

یافته‌ها

به‌طور کلی ۱۷ ایزوله مخمری جداسازی شدند، از میان آنها تنها ۸ جدایه توانایی حذف رنگ در غلظت ۱۰۰میلی‌گرم بر لیتر رنگ دی‌آزوی ریمازول‌بلک در حضور ۲٪/۵ سدیم‌کلرید توسط زیست‌توده تر را داشتند.

جدایه ADH17 با ۹۷% حذف رنگ از محیط به‌عنوان توانمندترین جدایه برای انجام مراحل بعدی انتخاب شد (نمودار ۱).

www.SID.ir
Archive of SID

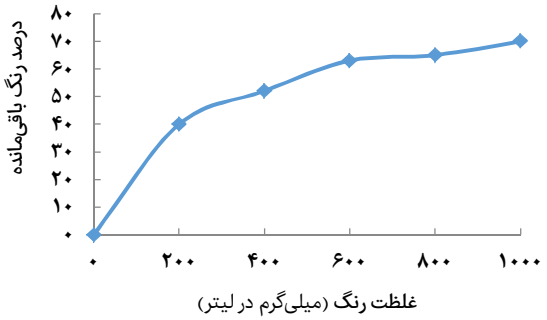


نمودار ۱) بررسی توانمندی جدایه‌ها در حذف رنگ دی‌آزوی ریمازول‌بلک با غلظت ۱۰۰میلی‌گرم بر لیتر

جدایه ADH17 با میزان شباهت ۱۰۰٪ نزدیک‌ترین سویه به جنس ساروکلادیوم بود و با شماره دستیابی KU752201 ثبت شد.
زیست‌توده خشک این جدایه توانایی بالاتری در جذب رنگ داشت. به همین ترتیب زیست‌توده خشک با ۶۰% در مقایسه با زیست‌توده تر با میزان ۱۴٪/۹ میزان جذب رنگ برای بررسی‌های بعدی انتخاب شد (شکل ۱).

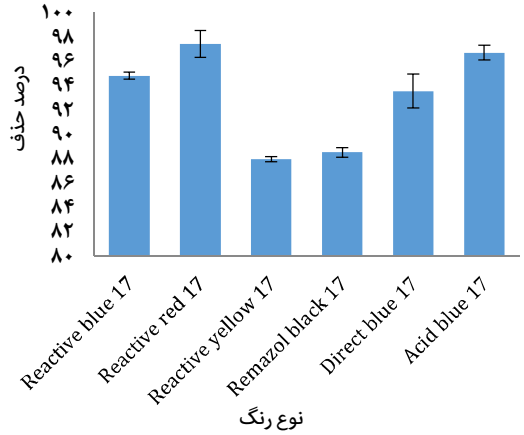
شکل ۱) مقایسه میزان رنگ‌بری زیست‌توده خشک و تر جنس ساروکلادیوم

این جدایه توانایی جذب رنگ در غلظت‌های بالا را نیز داشت. به میزان ۱۴۰ و ۱۲۰میلی‌گرم به‌ترتیب در غلظت ۱۰۰۰ و ۲۰۰میلی‌گرم بر لیتر رنگ پس از یک‌ساعت مشاهده شد. بیشترین شیب نمودار تا غلظت ۲۰۰میلی‌گرم در لیتر مشاهد شد که نشان‌دهنده بیشترین میزان جذب بود و پس از آن شیب جذب کاهش یافت که می‌تواند ناشی از کم‌شدن جایگاه‌های اتصال رنگ باشد. میزان جذب رنگ تا غلظت ۶۰۰میلی‌گرم در لیتر قابل ملاحظه و در غلظت‌های بالاتر به‌دلیل اشباع‌شدن جایگاه‌های اتصال میزان جذب رنگ ناچیز بود (نمودار ۲).



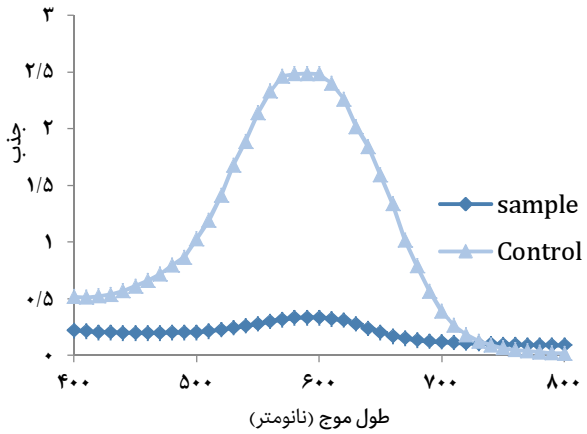
نمودار ۲) میزان درصد رنگ باقی‌مانده در غلظت‌های مختلف رنگ توسط جنس ساروکلادیوم

غلظت‌های مختلف نمک سدیم‌کلرید تاثیری در جذب رنگ توسط جدایه مورد نظر از جنس ساروکلادیوم نداشت.
میزان جذب ۲۰۰میلی‌گرم در لیتر از ریمازول‌بلک با ۰/۰۵گرم زیست‌توده خشک از جنس ساروکلادیوم در غلظت صفر، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰% نمک، جذب حدود ۶۰% را در تمامی غلظت‌ها نشان داد و با افزایش غلظت نمک، در ظرفیت جذب جاذب زیستی کاهش مشاهده نشد.
این سویه توانمندی بالایی در جذب رنگ‌های مختلف را نشان داد. بیشترین توانایی با ۹۷٪/۴۳ جذب رنگ مربوط به راکتیو رد ۱۷ و کمترین جذب مربوط به راکتیو یلو ۱۷ با میزان جذب ۸۷٪/۹۶ بود (نمودار ۳).



نمودار ۳) درصد جذب رنگ‌های مختلف در غلظت ۲۰۰میلی‌گرم بر لیتر توسط جنس ساروکلادیوم

سویه مورد نظر از جنس ساروکلادیوم طیف مختلف رنگ اسیدبلو، ریمازول‌بلک و دایرکت‌بلو را به‌خوبی جذب کرد.
سویه مورد نظر از جنس ساروکلادیوم توانایی جذب ترکیب رنگ‌های مختلف با تعداد حلقه‌های آزو (ترکیب رنگ‌های مونوآزوی یا اسیدبلو، دی‌آزوی یا ریمازول‌بلک و تری‌آزوی یا دایرکت‌بلو) متفاوت را داشت و علاوه بر جذب زیستی تک‌رنگ، توانایی جذب به‌صورت ترکیب رنگ‌ها را نیز نشان داد. بررسی طیف جذبی در طول موج‌های بین ۴۰۰ تا ۸۰۰نانومتر نمونه تیمارشده با زیست‌توده و مقایسه با طیف جذبی نمونه شاهد نشان‌دهنده کاهش جذب در طول موج‌های مختلف بود (نمودار ۴).



نمودار ۴) مقایسه طیف جذب ساروکلدیوم برای مخلوط رنگ‌های مختلف در مقایسه با نمونه شاهد

Archive of SID
www.SID.ir

در نمونه تیمارنشده و مخلوط رنگی در طول موج مرئی بین طول موج ۵۰۰ تا ۷۰۰نانومتر مشاهده شد و در نمونه تیمارشده با زیست‌توده مخمری میزان رنگ باقی‌مانده به‌شدت کاهش یافت، اما نمی‌توان در مورد جذب هر کدام از رنگ‌ها نتیجه‌گیری کرد. به‌طور کلی جذب قابل ملاحظه‌ای در طیف جذبی ۵۰۰ تا ۷۰۰نانومتر رخ داد (نمودار ۴).

بحث

پژوهش حاضر با هدف غربالگری و جداسازی مخمرهایی با توانایی بالای رنگ‌بری به‌منظور استفاده به‌عنوان جاذب زیستی توانمند در حذف رنگ‌های آزو انجام شد.

امروزه استفاده گسترده از رنگ‌های آزو در صنایع مختلف موجب تولید پساب‌های حاوی این رنگ‌ها و رهاسازی آن به محیط زیست شده است. در غالب موارد به‌دلیل استفاده از آب شور به‌ویژه در ایران، پساب صنایع ۴ تا ۱۰% نمک دارند، بنابراین جداسازی و دستیابی به جدایه‌های توانمند در رشد در این غلظت‌های نمک لازم و ضروری است.

در مطالعه‌ای *سیواسامی* و *ساندارابال* روی قارچ‌های *آسپرژیلوس نیگر* (*Aspergillus niger*) و جنس تریکودرما (Trichoderma sp.) نتایج حاصل به‌دست‌آمده نشان داد که درصد جذب رنگ با افزایش غلظت رنگ در محیط کاهش می‌یابد[22]. در پژوهش حاضر نیز نتایج مشابهی به‌دست‌آمد. طبق پژوهش حاضر همراه با افزایش غلظت رنگ، جایگاه اتصال رنگ در سطح سلول توسط مولکول‌های رنگ اشغال شد. اما برخلاف نتایج به‌دست‌آمده توسط *سیواسامی*، مطالعه حاضر نشان داد که جدایه مخمری جنس ساروکلادیوم در جذب رنگ‌های آزوی مختلف توانا است و از آنجا که پساب صنایع نساجی حاوی مخلوطی از ترکیب رنگ‌های مختلف است، پاکسازی رنگ‌های مختلف توسط این سویه می‌تواند حایز اهمیت باشد. در مطالعه انجام شده توسط *رنجوشا* و همکاران، جذب زیستی ریمازول‌بلک توسط زیست‌توده خشک کپک *آسپرژیلوس فلاووس* (*Aspergillus flavus*) بررسی شد، در این مطالعه بالاترین میزان جذب به میزان ۷۸% در غلظت ۲۵۰میلی‌گرم در لیتر طی ۴ روز گزارش شد[23]. همچنین براساس نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش مشخص شد که در حضور نمک جذب رنگ توسط این جدایه تحت تاثیر قرار نمی‌گیرد. وجود املاح نمکی در پساب‌های صنایع نساجی می‌تواند موجب اختلال در فرآیند پاکسازی و رنگ‌بری شود. تحمل‌پذیری و حذف زیستی رنگ‌های آزو توسط سویه از جنس ساروکلادیوم در حضور غلظت‌های مختلف نمک جدایه را به‌عنوان گزینه‌ای مناسب برای حذف رنگ‌های آزو از پساب‌های شور صنایع نساجی معرفی می‌نماید. آزمایشات انجام‌شده با استفاده از زیست‌توده تر و خشک این جدایه نشان از این داشت که هر دو نوع زیست توده قادر به جذب رنگ ریمازول‌بلک بودند اما میزان جذب رنگ در زیست‌توده خشک به میزان قابل توجهی نسبت به زیست‌توده تر بالاتر بود. براساس پژوهش‌های انجام‌شده توسط *کاوشیک* و همکاران عوامل سطحی در زیست توده میکروارگانیزم‌ها از مهمترین جاذب‌های زیستی رنگ‌ها هستند که استفاده از زیست‌توده مرده مزایایی مانند کاهش مخاطرات زیستی، قابلیت نگه‌داری طولانی‌تر و در برخی موارد قابلیت احیا مجدد بیشتری نسبت به زیست‌توده تر دارد[24] بنابراین براساس نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر می‌توان به‌سادگی نتیجه گرفت که مکانیزم جذب رنگ توسط این سویه مستقل از متابولیزم قارچ بوده و به‌صورت غیرفعال و از نوع جذب زیستی سطحی است[23]. این سویه همچنین براساس توانایی بالای آن در رنگ‌بری در مدت زمان کوتاه، همانند باکتری هالوموناس می‌تواند در تصفیه زیستی پساب‌های واجد رنگ‌های صنعتی استفاده شود[24].

براساس نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر جنس ساروکلادیوم به‌عنوان عامل زیستی مناسب و توانمند در جذب رنگ‌های آزوی مختلف در حضور نمک مورد استفاده در کارخانجات نساجی معرفی شد. با توجه به توانمندی این سویه در جذب رنگ‌های آزو و عدم گزارش آن به‌عنوان عامل زیستی جذب‌کننده رنگ‌های آزو، این جدایه می‌تواند به‌عنوان گزینه ارزشمندی به‌منظور جذب رنگ از پساب‌های صنایع نساجی به کار رود.

از جمله پیشنهادت این پژوهش می‌توان به مقایسه خاصیت رنگ‌بری زیستی ساروکلادیوم با جاذب‌های شیمیایی رایج در رنگ‌بری پساب از جمله ذغال فعال و همچنین بررسی توان بازیافت و احیا مجدد زیست‌توده قارچی برای استفاده مجدد آن اشاره کرد. هزینه بالای تولید بیومس قارچی در مقایسه با جاذب‌های شیمیایی از جمله محدودیت‌های اصلی استفاده از این ترکیب به‌عنوان جاذب زیستی تجاری است.

نتیجه‌گیری

از بین ۱۷ جدایه مخمری، جدایه ADH17 با ۹۷٪ جذب رنگ ریمازول‌بلک در غلظت ۱۰۰میلی‌گرم بر لیتر توانمندترین جدایه است، و ۱۰۰% با جنس ساروکلادیوم مشابهت دارد. این سویه رنگ‌های مونو، دی و تری‌آزو و همچنین رنگ‌های اسیدی، بازی و راکتیو را جذب می‌کند. بیشترین جذب با ۹۷٪/۴۳ مربوط به راکتیو رد و کمترین جذب به راکتیو یلو با میزان جذب ۸۷٪/۹۶ است. جنس ساروکلادیوم به‌عنوان عامل زیستی مناسب و توانمند در جذب رنگ‌های آزوی مختلف در حضور نمک مورد استفاده در کارخانجات نساجی محسوب می‌شود.

تشکر و قدردانی: نویسندگان مقاله از دانشگاه تهران به‌دلیل حمایت مالی بخشی از هزینه‌های انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تاییدیه اخلاقی: اصول مربوط به اخلاق زیستی و اخلاق پژوهشی در پژوهش حاضر به‌طور کامل رعایت شده است.

تعارض منافع: هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

سهم نویسندگان: هدی نوری (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/تحلیل‌گر آماری/نگارنده بحث (۴۰%)؛ عالیه کامیابی (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی (۳۰%)؛ حمید مقیمی (نویسنده سوم)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی (۳۰%)

منابع مالی: بخشی از هزینه‌های این پژوهش از طریق دانشگاه تهران تامین شده است.

منابع

1- Miranda Rde C, Gomes Ede B, Pereira N Jr, Marin-Morales MA, Machado KM, Gusmão NB. Biotreatment of textile effluent in static bioreactor by Curvularia lunata URM 6179 and Phanerochaete chrysosporium URM 6181. Bioresour Technol. 2013;142:361-7.

2- Tan L, Li H, Ning S, Xu B. Aerobic decolorization and degradation of azo dyes by suspended growing cells and

www.SID.ir

from activated sludge: Issatchenkia orientalis JKS6. Ann Microbiol. 2014;64(2):475-82.
14- Martins MA, Cardoso MH, Queiroz MJ, Ramalho MT, Campos AM. Biodegradation of azo dyes by the yeast Candida zeylanoides in batch aerated cultures. Chemosphere. 1999;38(11):2455-60.
15- Ramalho PA, Scholze H, Cardoso MH, Ramalho MT, Oliveira-Campos AM. Improved conditions for the aerobic reductive decolourisation of azo dyes by Candida zeylanoides. Enzym Microb Technol. 2002;31(6):848-54.
16- Yang Q, Yediler A, Yang M, Kettrup A. Decolorization of an azo dye, Reactive Black 5 and MnP production by yeast isolate: Debaryomyces polymorphus. Biochem Eng J. 2005;24(3):249-53.
17- Ramalho PA, Cardoso MH, Cavaco-Paulo A, Ramalho MT. Characterization of azo reduction activity in a novel ascomycete yeast strain. Appl Environ Microbiol. 2004;70(4):2279-88.
18- Jadhav JP, Parshetti GK, Kalme SD, Govindwar SP. Decolourization of azo dye methyl red by Saccharomyces cerevisiae MTCC 463. Chemosphere. 2007;68(2):394-400.
19- Jadhav SU, Kalme SD, Govindwar SP. Biodegradation of Methyl red by Galactomyces geotrichum MTCC 1360. Int Biodeterior Biodegrad. 2008;62(2):135-42.
20- Vitor V, Corso CR. Decolorization of textile dye by Candida albicans isolated from industrial effluents. J Ind Microbiol Biotechnol. 2008;35(11):1353-7.
21- Zheng M, Chi Y, Yi H, Shao S. Decolorization of Alizarin Red and other synthetic dyes by a recombinant laccase from Pichia pastoris. Biotechnol Lett. 2014;36(1):39-45.
22- Sivasamy A, Sundarabal N. Biosorption of an azo dye by Aspergillus niger and Trichoderma sp. fungal biomasses. Curr Microbiol. 2011;62(2):351-7.
23- Kaushik P, Malik A. Mycoremediation of synthetic: An insight into the mechanism, process optimization and reactor design. In: Singh SN, editor. Microbial degradation of synthetic dyes in wastewaters. New York: Springer; 2014. pp. 1-25.
24- Taran M, Froedin N. Decolorization of remazol black-b by halomonas sp. PTCC1417 isolated from Urmia lake: Optimization by taguchi methodology. Biological J Microorg. 2013;2(6):1-10. [Persian]
immobilized cells of a newly isolated yeast Magnusiomyces ingens LH-F1. Bioresour Technol. 2014;158:321-8.
3- Ozdemir S, Cirik K, Akman D, Sahinkaya E, Cinar O. Treatment of azo dye-containing synthetic textile dye effluent using sulfidogenic anaerobic baffled reactor. Bioresour Technol. 2013;146:135-43.
4- Lucas MS, Amaral C, Sampaio A, Peres JA, Dias AA. Biodegradation of the diazo dye Reactive Black 5 by a wild isolate of Candida oleophila. Enzym Microb Technol. 2006;39(1):51-5.
5- Lang W, Sirisansaneeyakul S, Ngiwsara L, Mendes S, Martins LO, Okuyama M, et al. Characterization of a new oxygen-insensitive azoreductase from Brevibacillus laterosporus TISTR1911: Toward dye decolorization using a packed-bed metal affinity reactor. Bioresour Technol. 2013;150:298-306.
6- Taştan BE, Ertuğrul S, Dönmez G. Effective bioremoval of reactive dye and heavy metals by Aspergillus versicolor. Bioresour Technol. 2010;101(3):870-6.
7- Almeida EJR, Corso CR. Comparative study of toxicity of azo dye Procion Red MX-5B following biosorption and biodegradation treatments with the fungi Aspergillus niger and Aspergillus terreus. Chemosphere. 2014;112:317-22.
8- Chagas EP, Durrant LR. Decolorization of azo dyes by Phanerochaete chrysosporium and Pleurotus sajorcaju. Enzym Microb Technol. 2001;29(8-9):473-7.
9- Pearce C, Lloyd J, Guthrie J. The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells: A review. Dyes Pigments. 2003;58(3):179-96.
10- Dos Santos AB, Cervantes FJ, Van Lier JB. Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: Perspectives for anaerobic biotechnology. Bioresour Technol. 2007;98(12):2369-85.
11- Yu Z, Wen X. Screening and identification of yeasts for decolorizing synthetic dyes in industrial wastewater. Int Biodeterior Biodegrad. 2005;56(2):109-14.
12- Pajot HF, De Figueroa LIC, Fariña JI. Dye-decolorizing activity in isolated yeasts from the ecoregion of Las Yungas (Tucumán, Argentina). Enzym Microb Technol. 2007;40(6):1503-11.
13- Jafari N, Soudi MR, Kasra Kermanshahi R. Biodecolorization of textile azo dyes by isolated yeast

Archive of SID

www.SID.ir